



SKRIPSI – TK141581

**STUDI PENGARUH MIKROORGANISME TERHADAP
YIELD ETANOL PADA PROSES FERMENTASI *BATCH***

Oleh :

**Tri Wijaya Purnama
NRP. 2313105028**

**Arfian Hafidz Adinagara
NRP. 2313105032**

**Dosen Pembimbing :
Prof. Dr. Ir. Tri Widjaja, M.Eng
NIP. 196110211986031001**

**JURUSAN TEKNIK KIMIA
FAKULTAS TEKNOLOGI INDUSTRI
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA 2015**



FINAL PROJECT – TK141581

**STUDY OF MICROORGANISM EFFECT IN THE YIELD
OF ETHANOL AT BATCH FERMENTATION PROCESS**

By :

**Tri Wijaya Purnama
NRP. 2313105028**

**Arfian Hafidz Adinagara
NRP. 2313105032**

Advisor Lecturer :

**Prof. Dr. Ir. Tri Widjaja, M.Eng
NIP. 196110211986031001**

**CHEMICAL ENGINEERING DEPARTMENT
FACULTY OF INDUSTRIAL TECHNOLOGY
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA 2015**

LEMBAR PENGESAHAN

STUDI PENGARUH MIKROORGANISME TERHADAP YIELD ETANOL PADA PROSES FERMENTASI *BATCH*

Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Memperoleh Gelar
Sarjana Teknik pada Program Studi S-1 Jurusan Teknik Kimia
Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya

Oleh:

Tri Wijaya Purnama

2313 105 028

Arfian Hafidz Adinagara

2313 105 032

Disetujui oleh Tim Penguji Tugas Akhir :

1. Prof. Dr. Ir. Tri Widjaja, M.Eng

..... (Pembimbing I)

2. Prof. Dr. Ir. Arief Widjaja, M.Eng

..... (Penguji I)

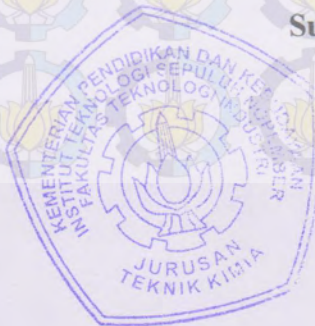
3. Setiyo Gunawan, S.T., Ph.D

..... (Penguji II)

4. Dr. Ir. Sri Rachmania Juliastuti, M.Eng

..... (Penguji III)

Surabaya, Juli 2015



STUDI PENGARUH MIKROORGANISME TERHADAP *YIELD* ETANOL PADA PROSES FERMENTASI *BATCH*

ABSTRAK

Pengembangan dan inovasi bahan baku sorgum sebagai penunjang kebutuhan etanol food grade adalah salah satu hal yang diprioritaskan apalagi jika mempunyai nilai keekonomian yang tinggi. Khususnya dapat membangkitkan keekonomian di masyarakat pedesaan. Sorgum adalah tanaman serealia yang potensial untuk dibudidayakan dan dikembangkan. Prospek sorgum di Indonesia dapat dijadikan komoditas andalan mengingat sorgum bisa dikembangkan searah dan sejalan dengan upaya peningkatan produktivitas lahan kosong yang jumlahnya sangat luas terdapat di negeri ini.

*Proses fermentasi dilakukan secara batch dalam bioreactor. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh mikroorganisme *Zymomonas mobilis* termutasi (A3), *Saccharomyces cerevisiae* dan campuran *Pichia stipitis* dalam proses fermentasi. Suhu fermentasi dijaga 29-30°C dan sampel diambil setiap 6 jam selama 90 jam dengan variasi kadar gula awal 100 g/L dan 150 g/L.*

*Dari hasil penelitian ini didapatkan data bahwa campuran *Saccharomyces cerevisiae* dan *Pichia stipitis* memiliki yield terbesar untuk proses fermentasi dengan kadar gula awal 100 g/L sebesar 48,99% dengan kadar etanol yang dihasilkan sebesar 6,21%. Sedangkan untuk proses fermentasi dengan kadar gula awal 150 g/L, *Zymomonas mobilis* termutasi memiliki yield terbesar yaitu 40,92% dengan kadar etanol sebesar 7,78%.*

Kata Kunci : Etanol, nira sorghum, *Zymomonas mobilis*, *Pichia stipitis*, *Saccharomyces cerevisiae*.

STUDY OF MICROORGANISM EFFECT IN THE YIELD OF ETHANOL AT BATCH FERMENTATION PROCESS

ABSTRACT

Development and innovation of raw materials sorghum as supporting the needs of food-grade ethanol is one thing that is prioritized especially if it has a high economic value. In particular can generate economies of rural communities. Sorghum is a potential cereal crops to be cultivated and developed, especially on marginal lands and dry in Indonesia. Prospects sorghum in Indonesia can be used as a commodity given sorghum could be developed in the direction of and in line with efforts to increase the productivity of vacant land very extensive amount contained in this country.

*Fermentation process using batch system in the bioreactor. In this research, the effect on the microorganisms in the fermentation process is *Zymomonas mobilis* mutant (A3), *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia stipitis* mixture. Fermentation temperature is kept at 29-30°C and sample is taken every 6 hours for 90 hours with 100 g/L and 150 g/L initial sugar concentration.*

*From this research we obtain that mixture of *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia stipitis* have higher yield for fermentation process with 100 g/L of initial sugar concentration, 48,99% and the ethanol concentration is 6,21%. For fermentation process with 150 g/L of initial sugar concentration, *Zymomonas mobilis* mutant have higher yield, 40,92% with 7,78% of ethanol concentration.*

Keywords: *Ethanol, sorghum juice, *Zymomonas mobilis*, *Pichia stipitis*, *Saccharomyces cerevisiae*.*

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur kehadiran Allah SWT. yang selalu melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga kami dapat menyelesaikan Proposal Skripsi kami yang berjudul “**Studi Pengaruh Mikroorganisme Terhadap Yield Etanol Pada Proses Fermentasi *Batch*** “ tepat pada waktunya. Tugas Akhir ini disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan studi program Strata-1 di Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.

Penulis menyadari dalam penyusunan Proposal Skripsi ini tidak akan selesai tanpa bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu pada kesempatan ini kami ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Tri Widjaja, M.Eng. selaku Ketua Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya
2. Bapak Prof. Dr. Ir. Tri Widjaja, M.Eng selaku Dosen Pembimbing I Laboratorium Teknologi Biokimia, Jurusan Teknik Kimia FTI-ITS, atas bimbingan, saran, dan motivasi yang diberikan.
3. Bapak Prof. Dr. Ir. Arief Widjaja, M.Eng selaku Kepala Laboratorium Teknologi Biokimia, Jurusan Teknik Kimia FTI-ITS, atas bimbingan, saran, dan motivasi yang diberikan.
4. Bapak Setiyo Gunawan, ST, Ph.D selaku Koordinator Tugas Akhir dan Skripsi Jurusan Teknik Kimia FTI – ITS Surabaya.
5. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Teknik Kimia FTI – ITS Surabaya yang telah memberikan ilmunya kepada penulis.
6. Seluruh civitas akademika Jurusan Teknik Kimia FTI-ITS yang telah memberikan dukungan moril kepada penulis
7. Orang tua serta saudara-saudara kami, atas doa, bimbingan, perhatian, serta kasih sayang yang selalu tercurah selama ini.

8. Keluarga besar Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS), teman-teman di Laboratorium Biokimia Jurusan Teknik Kimia FTI-ITS, teman-teman LJ Ganjil 2013 dan teman-teman K51 atas semua dukungan, semangat, serta kerjasamanya.

Kami menyadari laporan Proposal Skripsi ini tidak luput dari berbagai kekurangan, untuk itu penulis mengharapkan saran dan kritik demi kesempurnaan dan perbaikannya. Akhirnya laporan Proposal Skripsi ini dapat memberikan sumbangan bagi pembaca.

Surabaya, July 2015

Penyusun

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	
ABSTRAKSI	i
ABSTRACT	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR TABEL	ix
BAB I PENDAHULUAN	
I.1 Latar Belakang	I-1
I.2 Rumusan Masalah	I-3
I.3 Rumusan Masalah	I-3
I.4 Tujuan Penelitian	I-3
I.5 Manfaat Penelitian	I-3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
II.1 Teori Penunjang	
II.1.1 Bahan Baku	II-1
II.1.2 Mikroorganisme	
II.1.2.1 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	II-2
II.1.2.2 <i>Zymomonas mobilis</i> Termutasi A3	II-3
II.1.2.3 <i>Pichia stipitis</i>	II-3
II.1.3 Proses Fermentasi.....	II-4
II.2 Daftar Acuan	II-5
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	
III.1 Variabel Penelitian.....	III-1
III.2 Dimensi Alat.....	III-1
III.3 Bahan dan Peralatan	
III.3.1 Bahan	III-1
III.3.2 Peralatan	III-1
III.4 Prosedur Penelitian	
III.4.1 Pengembangan Kultur	III-2
III.4.2 Pre-treatment Nira Batang Sorgum	III-3
III.4.3 Pembuatan Starter.....	III-4
III.4.3 Proses Fermentasi.....	III-4

III.5 Diagram Alir Penelitian	
III.5.1 Analisa Jumlah Sel	III-4
III.5.2 Analisa Kadar Residu Glukosa	III-5
III.6 Gambar Alat.....	III-9
III.7 Diagram Alir	
III.7.1 Tahap Persiapan.....	III-9
III.7.2 Fermentasi	III-12
III.7.3 Analisa Hasil Fermentasi.....	III-12
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	
IV.1 Kinerja Mikroorganisme	
IV.1.1 <i>Zymomonas mobilis</i> Termutasi A3.....	IV-1
IV.1.2 <i>Pichia Stipitis</i>	IV-3
IV.1.3 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	IV-5
IV.2 Pengaruh Jenis Mikroorganisme terhadap Performa Fermentasi	
IV.2.1 Pertumbuhan Mikroorganisme dan Konsentrasi Gula terhadap Waktu Fermentasi.....	IV-6
IV.2.2 Penurunan Konsentrasi Gula Tiap Jenis Mikroorganisme pada Fermentasi.....	IV-18
IV.3 Pengaruh Jenis Mikroorganisme terhadap Konsentrasi dan <i>Yield</i> Etanol.....	IV-21
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
V.1 Kesimpulan	V-1
V.2 Saran	V-1
DAFTAR PUSTAKA.....	x
DAFTAR NOTASI	xiii
APPENDIX	A-1

DAFTAR TABEL

Tabel II.1	Komposisi Nira Sorgum	II-2
Tabel IV.1	Hasil Analisa HPLC Unit Layanan Pengujian UNAIR.....	IV-1

DAFTAR GAMBAR

Gambar II.1	Tanaman Sorgum	II-1
Gambar II.2	Batang Sorgum	II-2
Gambar III.1	<i>Haemacytometer</i> Neubauer	III-5
Gambar III.2	Analisa kadar residu glukosa dengan metode DNS	III-7
Gambar III.3	Peralatan Fermentasi	III-9
Gambar IV.1	Grafik Pertumbuhan <i>Zymomonas mobilis</i> termutasi A3	IV-2
Gambar IV.2	Grafik Pertumbuhan <i>Pichia Stipitis</i>	IV-4
Gambar IV.3	Grafik Pertumbuhan <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	IV-5
Gambar IV.4	Grafik Pertumbuhan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> dan Penurunan Konsentrasi Gula terhadap Waktu pada Fermentasi dengan Konsentrasi Gula Awal 100 g/L.	IV-7
Gambar IV.5	Grafik Pertumbuhan Campuran <i>Saccharomyces cerevisiae</i> + <i>Pichia Stipitis</i> dan Penurunan Konsentrasi Gula terhadap Waktu pada Fermentasi dengan Konsentrasi Gula Awal 100 g/L.	IV-8
Gambar IV.6	Grafik Pertumbuhan <i>Zymomonas mobilis</i> A3 dan Penurunan Konsentrasi Gula terhadap Waktu pada Fermentasi dengan Konsentrasi Gula Awal 100 g/L.	IV-9
Gambar IV.7	Grafik Pertumbuhan Campuran <i>Zymomonas mobilis</i> A3 + <i>Pichia Stipitis</i> dan Penurunan Konsentrasi Gula terhadap Waktu pada Fermentasi dengan Konsentrasi Gula Awal 100 g/L.	IV-10
Gambar IV.8	Grafik Pertumbuhan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> dan Penurunan Konsentrasi Gula terhadap Waktu pada Fermentasi dengan Konsentrasi Gula Awal 150 g/L.	IV-11

Gambar IV.9	Grafik Pertumbuhan Campuran <i>Saccharomyces cerevisiae</i> + <i>Pichia Stipitis</i> dan Penurunan Konsentrasi Gula terhadap Waktu pada Fermentasi dengan Konsentrasi Gula Awal 150 g/L.	IV-12
Gambar IV.10	Grafik Pertumbuhan <i>Zymomonas mobilis</i> A3 dan Penurunan Konsentrasi Gula terhadap Waktu pada Fermentasi dengan Konsentrasi Gula Awal 150 g/L.	IV-13
Gambar IV.11	Grafik Pertumbuhan Campuran <i>Zymomonas mobilis</i> A3 + <i>Pichia Stipitis</i> dan Penurunan Konsentrasi Gula terhadap Waktu pada Fermentasi dengan Konsentrasi Gula Awal 150 g/L.	IV-14
Gambar IV.12	Grafik Pertumbuhan Tiap Jenis Mikroorganisme pada Fermentasi dengan Konsentrasi Gula Awal 100 g/L.....	IV-15
Gambar IV.13	Grafik Pertumbuhan Tiap Jenis Mikroorganisme pada Fermentasi dengan Konsentrasi Gula Awal 150 g/L.....	IV-17
Gambar IV.14	Grafik Gula Reduksi sebagai Fungsi Waktu pada Fermentasi tiap Jenis Mikroorganisme dengan Konsentrasi Gula Awal 100 g/L.....	IV-19
Gambar IV.15	Grafik Gula Reduksi sebagai Fungsi Waktu pada Fermentasi tiap Jenis Mikroorganisme dengan Konsentrasi Gula Awal 150 g/L.....	IV-20
Gambar IV.16	Perbandingan Kadar Etanol <i>Broth</i> Pada Proses Fermentasi <i>Batch</i> untuk Masing - Masing Mikroorganisme	IV-22
Gambar IV.17	Perbandingan <i>Yield</i> Etanol Pada Proses Fermentasi <i>Batch</i> untuk Masing – Masing Mikroorganisme	IV-24

DAFTAR NOTASI

No	Notasi	Keterangan	Satuan
1	d	Diameter Kolom	cm
2	E	Konsentrasi Etanol	%
3	L	Panjang Kolom	cm
4	M	Molaritas	mol/L
5	P	Produktivitas Etanol	g/L.jam
6	S	Konsentrasi Substrat	g/L
7	t	Waktu	jam
8	V	Volume	L
9	Y	Yield Etanol	%
10	V	Volume	L
11	V _T	Volume Total bioreactor	L
12	ρ	Massa jenis/densitas	g/mL
13	R	<i>Recovery</i>	%
14	Z	<i>Zymomonas Mobilis</i>	-
15	Z+P	Campuran <i>Zymomonas Mobilis</i> dan <i>Pichia Stipitis</i>	-
16	S+P	Campuran <i>Sacharomyces Cereviseae</i> dan <i>Pichia Stipitis</i>	-
17	S	<i>Sacharomyces Cereviseae</i>	-
18	ρ	Massa jenis/densitas	g/mL

BAB I

PENDAHULUAN

I.1. Latar Belakang

Sorgum adalah tanaman serealia yang potensial untuk dibudidayakan dan dikembangkan, khususnya pada daerah-daerah marginal dan kering di Indonesia. Keunggulan sorgum terletak pada daya adaptasi agroekologi yang luas, tahan terhadap kekeringan, produksi tinggi, perlu input lebih sedikit serta lebih tahan terhadap hama dan penyakit dibanding tanaman pangan lain. Selain itu, tanaman sorgum memiliki kandungan nutrisi yang tinggi, sehingga sangat baik digunakan sebagai sumber bahan pangan maupun pakan ternak alternatif.

Melihat potensi dari sorgum yang jumlahnya cukup melimpah di Indonesia, kandungan gula didalamnya sekitar 10%-16% yang merupakan kadar gula optimum dalam proses pembuatan bioetanol dengan fermentasi, serta pemanfaatannya yang masih digunakan sebagai bahan pakan ternak (bukan bahan pangan pokok), maka sorgum memiliki potensi yang cukup tinggi untuk dikembangkan sebagai ketahanan sumber energi terbarukan di Indonesia.

Keunggulan sorghum adalah tanaman sorghum memiliki produksi biji dan biomassa yang jauh lebih tinggi dibandingkan tebu. Adaptasi tanaman sorghum jauh lebih luas dibanding tebu sehingga sorghum dapat ditanam di hampir semua jenis lahan, baik lahan subur maupun lahan marginal. Sorghum memiliki sifat lebih tahan terhadap kekeringan, salinitas tinggi dan genangan air (water lodging). Sorghum memerlukan pupuk lebih sedikit dibandingkan dengan tebu dan pemeliharaannya lebih mudah dari tebu. Laju pertumbuhan tanaman sorghum jauh lebih cepat umurnya hanya 4 bulan dibandingkan dengan tebu 7 bulan. Departemen Energi dan Sumber Daya Mineral (ESDM) dalam situsnya menyebutkan perolehan alcohol dari sorghum mencapai 6000 liter per

hektar per tahun (dua kali panen) dibandingkan singkong yang 4500 liter per hektar per tahun dan tebu 5025 liter per hektar per tahun.

Bioetanol (C_2H_5OH) diperoleh melalui proses fermentasi gula sederhana / glukosa yang terdapat pada bahan alami (tumbuh-tumbuhan) dengan memanfaatkan kemampuan mikroorganisme tertentu. Fermentasi pada umumnya menggunakan proses *batch*. Pada fermentasi *batch*, pada dasarnya prinsipnya merupakan sistem tertutup, tidak ada penambahan media baru, tidak ada penambahan oksigen ($-O_2$), *antifoam* dan asam/basa dengan cara kontrol pH. Fermentasi *batch* banyak diterapkan dalam dunia industri, karena kemudahan dalam proses sterilisasi dan pengontrolan alat (Widjaja *et al.*, 2010). Fermentasi *batch* banyak diaplikasikan di industri etanol karena dapat menghasilkan kadar etanol yang tinggi (Silviana *et al.*, 2010). Latar belakang inilah yang mendasari pemilihan judul :

**“STUDI PENGARUH MIKROORGANISME
TERHADAP YIELD ETANOL PADA PROSES
FERMENTASI BATCH”**

I.2 Rumusan Masalah

- ❖ Mikroorganisme yang umum digunakan adalah *Zymomonas mobilis* dan *Saccaromyces cerevisiae* saja sehingga perlu membandingkan dengan campuran *Pichia stipitis* dalam produksi etanol.
- ❖ Menggunakan variasi kadar gula untuk membandingkan kinerja fermentasi

I.3 Batasan Masalah

Agar penelitian ini tidak menyimpang dari ketentuan yang digariskan maka diambil batasan dan asumsi sebagai berikut :

1. Yang akan dikerjakan dalam tugas akhir ini adalah pembuatan etanol dengan bahan baku nira batang sorghum.
2. Bakteri yang digunakan adalah *Zymomonas mobilis*, *Saccaromyces serevisiae* dan *Pichia stipitis* serta diseleksi pada media asam sehingga membentuk karakteristik tahan terhadap asam.
3. Fermentor yang digunakan pada proses pembuatan etanol adalah reaktor *batch*.

I.4 Tujuan Penelitian

- Mengetahui performa terbaik dari variasi mikroorganisme yang digunakan dalam produksi etanol dengan proses fermentasi *batch* dari nira batang sorghum.
- Mengetahui karakteristik kinerja sistem fermentasi batch dalam bioreaktor dengan variasi kadar gula.

I.5 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dari penelitian ini adalah :

- Sebagai bentuk aplikasi ilmu yang telah penulis dapatkan selama belajar di bangku kuliah.
- Sebagai salah satu bahan referensi dalam menambah pengetahuan dalam ilmu fermentasi.
- Sebagai informasi bahwa proses pembuatan etanol dalam eksperimen ini menggunakan nira batang sorghum.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Teori Penunjang

II.1.1 Bahan Baku

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah nira batang sorghum (*Sorghum Bicolor L. Moench*). Nira batang sorghum merupakan bagian cairan manis yang terkandung dalam batang sorghum. Nira dapat diperoleh dengan memeras batang sorghum. Nira batang sorghum banyak tersedia di Jawa Tengah, Jawa Timur, DI Yogyakarta, serta NTB dan NTT.



Gambar II.1 Tanaman Sorgum



Gambar II.2 Batang Sorgum

Kingdom : Plantae
 Division : Magnoliophyta
 Class : Liliopsida
 Ordo : Poales
 Family : Poaceae
 Genus : *Sorghum* L.
 Species : *Sorghum bicolor*

Tabel II.1 Komposisi Nira Sorgum

Komposisi	Nira Sorgum
Brix (%)	13,60 – 18,40
Sukrosa (%)	10 – 14,40
Gula reduksi (%)	0,75 – 1,35
Gula total (%)	11 – 16

Sumber : Direktorat Jendral Perkebunan (1996)

II.1.2 Mikroorganisme

II.1.2.1 *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces adalah genus dalam kerajaan jamur yang mencakup banyak jenis ragi. *Saccharomyces* berasal dari bahasa Latin yang berarti gula jamur. *Saccharomyces* merupakan mikroorganisme bersel satu tidak berklorofil, termasuk kelompok *Eumycetes*. Tumbuh baik pada suhu 30°C dan pH 4,8. Beberapa kelebihan *Saccharomyces* dalam proses fermentasi yaitu mikroorganisme ini cepat berkembangbiak, tahan terhadap

kadar alkohol yang tinggi, tahan terhadap suhu yang tinggi, mempunyai sifat stabil dan cepat mengadakan adaptasi. Pertumbuhan *Saccharomyces* dipengaruhi oleh adanya penambahan nutrisi yaitu unsur C sebagai sumber carbon, unsur N yang diperoleh dari penambahan urea, ZA, amonium dan pepton, mineral dan vitamin. Suhu optimum untuk fermentasi antara 28 – 30°C.

Keuntungan menggunakan ragi roti antara lain adalah :

- a. Hemat biaya
- b. Mudah digunakan
- c. Memiliki kemampuan fermentasi tinggi
- d. Dosis pemakaian rendah

II.1.2.2 *Zymomonas mobilis* Termutasi A3

Bakteri *Zymomonas mobilis* merupakan bakteri gram negatif yang dapat ditemukan pada tumbuh-tumbuhan yang kaya gula. Pada umumnya mempunyai panjang 2-6 µm dan lebar 1-1.4 µm, tetapi ukuran ini bisa berubah-ubah secara signifikan. *Zymomonas mobilis* merupakan bakteri anaerob fakultatif, yang memanfaatkan sukrosa, glukosa dan fruktosa dan mempunyai laju pertumbuhan yang tinggi dan tahan terhadap konsentrasi etanol sekitar 10%. Berdasarkan P. Gunasekaran (1999), bakteri *Zymomonas mobilis* adalah kandidat mikroorganisme yang terbaik untuk industri alkohol.

Selain itu, keunggulan bakteri *Zymomonas mobilis* tersebut adalah mempunyai morfologi yang lebih besar dengan gerakan yang lebih pelan dan lebih tahan terhadap kondisi asam dibanding kondisi awal. pH optimum untuk *Zymomonas mobilis* A3 adalah 4,5 (Rosa Putra, 2008).

Zymomonas mobilis A3, yaitu bakteri *Zymomonas mobilis* yang dimutasi menggunakan mutagen hydroxylamine yang diseleksi pada media asam sehingga membentuk karakteristik tahan terhadap asam. Kelebihan *Zymomonas mobilis* A3 yaitu, memiliki toleransi suhu yang tinggi, kemampuan untuk mencapai konversi yang lebih cepat, lebih tahan terhadap kadar etanol

yang tinggi yang dihasilkan pada proses fermentasi apabila dibandingkan *Zymomonas mobilis* yang tak termutasi (Widjaja,2010).

Zymomonas mobilis mempunyai sifat yang tahan terhadap kadar etanol yang tinggi yang dihasilkan pada proses fermentasi apabila dibandingkan dengan *Saccaromyces cerevisiae* karena bakteri ini memiliki struktur hopanoid atau lipida membran yang kompleks sehingga menyebabkan membran menjadi lebih stabil dan memiliki kerapatan yang baik, sehingga molekul lain sulit untuk menembus sel tersebut, termasuk etanol. Oleh karena itu pada penelitian ini untuk mikrooragnismenya menggunakan *Zymomonas mobilis* (Widjaja,2010).

II.1.2.3 *Pichia stipitis*

Pichia stipitis adalah dominasi haploid, ragi heterotolik yang memiliki hubungan dengan *Candida shehatae* dan pentosa metabolisme ascomycetous ragi species. *Pichia stipitis* memiliki kapasitas tertinggi untuk fermentasi xylose dari setiap mikroba yang dikenal. Strain *P. stipitis* adalah yang terbaik dalam xylose-fermentasi ragi dalam koleksi kultur sejenis.

Pichia stipitis memiliki beberapa kekurangan, diantaranya adalah tidak tahan dengan konsentrasi tinggi dari etanol yang dihasilkan. *Pichia stipitis* memiliki beberapa kelebihan dibandingkan *Saccaromyces cerevisiae* dan *Zymomonas mobilis*, diantaranya lebih toleran terhadap suhu, dimana dapat melakukan proses fermentasi pada suhu ruangan, pH rendah (Zhang *et al.*, 2010).

II.1.3 Proses Fermentasi

Fermentasi *batch* merupakan fermentasi dengan cara memasukan media dan inokulum secara bersamaan ke dalam bioreaktor dan pengambilan produk dilakukan pada akhir fermentasi. Pada sistem *batch*, bahan media dan inokulum dalam waktu yang hampir bersamaan di masukan ke dalam bioreactor, dan pada saat proses berlangsung akan terjadi terjadi perubahan

kondisi di dalam bioreactor (nutrient akan berkurang dan produk serta limbah).

Pada fermentasi *batch*, pada dasarnya prinsipnya merupakan sistem tertutup, tidak ada penambahan media baru, ada penambahan oksigen ($-O_2$) dan *aerasi*, *antifoam* dan asam/basa dengan cara kontrol pH. Fermentasi *batch* banyak diterapkan dalam dunia industri, karena kemudahan dalam proses sterilisasi dan pengontrolan alat (Minier and Goma, 1982). Selain itu juga, pada cara *batch* menurut penelitian yang dilakukan Hana Silviana (2010), mengatakan bahwa cara *batch* banyak diaplikasikan di industri etanol karena dapat menghasilkan kadar etanol yang tinggi.

II.2 Daftar Acuan

1. Cazetta ML, Celligoi MAPC, Buzato JB and Scarmino IS, (2007) Fermentation of molases by *Zymomonas mobilis*: Effects of temperature and sugar concentration on etanol production. Penelitian ini untuk mempelajari efek temperatur dan konsentrasi molases dalam memproduksi etanol. Fermentasi menggunakan *Zymomonas mobilis*, sebagai pengganti ragi-ragi yang tradisional, telah diusulkan untuk memproduksi etanol untuk mendekati secara teoritis. Etanol produksi dari tetes tebu molases adalah dianalisa di bawah kondisi-kondisi biakan yang berbeda menggunakan *Z. mobilis* pada fermentasi batch. Total reducing sugars (TRS) konsentrasi di molases, temperatur, agitasi dan waktu biakan secara simultan dengan secara design factor. Kondisi terbaik untuk produksi etanol adalah 200 gL^{-1} total pengurangan glukosa di molases, temperatur 30°C dan waktu pembiakan fermentasi 48 jam, menghasilkan $55,8 \text{ gL}^{-1}$. PH medium dijaga konstan selama eksperimen menunjukkan bahwa molases memberikan pengaruh penyeimbang.
2. Anuj. K, Chandel, et al (2011) memproduksi etanol dari

media hidrolisat sintetis dengan komposisi (g/L) xilosa 24,59; glukosa 4,52; arabinosa 1,57; mannososa 2,35 dan galaktosa 0,81. Hidrolisat sinetis difermentasi selama 72 jam dengan *Saccharomyces cerevisiae* (10 ml) menghasilkan yield 0,22gp/g; *Pichia stipitis* (10 ml) menghasilkan yield 0,44gp/g; campuran *Saccharomyces cerevisiae* dan *Pichia stipitis* (7,5 ml dan 2,5 ml) menghasilkan yield 0,32gp/g; campuran *Saccharomyces cerevisiae* dan *Pichia stipitis* (5 ml dan 5 ml) menghasilkan yield 0,40 gp/g; campuran *Saccharomyces cerevisiae* dan *Pichia stipitis* (2,5 ml dan 7,5 ml) menghasilkan yield 0,49 gp/g.

3. R.D. Mutepe, S.Marx, P. Van Der Gryp, (1995) Tujuan penelitian ini untuk menentukan variasi pH pada hasil fermentasi. Hasil dari penelitian ini didapatkan kesimpulan, pada pH 4 yield etanol 0.4 g/g. Pada pH 4.5 didapat yield 0.45 g/g. Pada pH 5 dan 5.5 yield sekitar 0.425 g/g. Pada pH 6 yield etanol sebesar 0.35 g/g.
4. Endah R.D., Sperisa D., Adrian Nur, Paryanto. (2007). Pengaruh Kondisi Fermentasi Terhadap Yield Etanol pada Pembutan Bioetanol dari Pati Garut. Penelitian ini mempelajari tentang pengaruh suhu pada fermentasi. Pada suhu fermentasi 30°C didapat etanol 20 ml (92% setelah melalui proses distilasi). Pada suhu fermentasi 35°C didapat etanol 50 ml (91% setelah melalui proses distilasi).
5. Setyowati Y., Suminta A.C, Widjaja T, Setiyo G. (2015). Pengembangan dan inovasi bahan baku sorgum sebagai penunjang kebutuhan etanol food grade. Proses fermentasi menggunakan mesin biologis dilakukan secara kontinyu dan batch dalam bioreactor. Pada penelitian ini dilakukan pengaruh terhadap macam mikroorganisme dalam proses fermentasi yaitu *Zymomonas mobilis* termutasi (A3), *Saccharomyces cerevisiae* dan campuran *Pichia Stipitis*. Dari penelitian ini akan diperoleh % yield, nilai produktivitas dan % recovery. Mikroorganisme memberikan hasil

produktivitas terbaik ditunjukkan pada fermentasi kontinu yaitu sebesar 84,049 (g/L.jam) dengan menggunakan mikroorganisme campuran *Saccharomyces Cerevisiae*+*Pichia*. Hasil % yield etanol tertinggi dihasilkan pada fermentasi batch dengan menggunakan variasi *Saccharomyces Cerevisiae*+*Pichia Stipitis* yaitu sebesar 51,269 %. Sedangkan untuk hasil akhir adsorpsi, data terbaik ditunjukkan pada fermentasi kontinu dengan mikroorganisme *Zymomonas Mobilis* sebesar 88,374 %.

6. Kengo Sasaki , Yota Tsuge , Daisuke Sasaki , Hiroshi Teramura , Satoshi Wakai, Hideo Kawaguchi , Takashi Sazuka , Chiaki Ogino , Akihiko Kondo.(2014) Penelitian ini bertujuan untuk mencapai konsentrasi etanol tinggi dengan berkonsentrasi nira sorghum menggunakan proses pemisahan membran dua langkah . Ultrafiltrasi perembesan air itu digunakan untuk menghapus residu, diikuti dengan konsentrasi nanofiltrasi untuk meningkatkan konsentrasi gula . Nira sorghum yang mengandung 180.0 g L sukrosa , 59,3 g L glukosa dan 49,3 g L fruktosa ditambah dengan sumber nitrogen (10 dan 20 g L ekstrak ragi dan polipepton , masing-masing) yang difermentasi oleh *Saccharomyces cerevisiae* BY4741 untuk menghasilkan 133,5 g L etanol (87,6 % dari hasil teoritis) setelah 48 jam fermentasi . Penambahan konsentrasi yang lebih rendah dari sumber nitrogen eksogen (3 dan 6 g L ekstrak ragi dan polipepton , masing-masing) atau tidak ada sumber nitrogen eksogen mengakibatkan dalam produksi 131,4 dan 132,8 g L etanol (84,8 % dan 86,0 % dari hasil teoritis).

Halaman ini sengaja dikosongkan

BAB III METODE PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk memanfaatkan nira batang sorghum sebagai bahan baku pembuatan bioetanol dengan menggunakan variasi mikroorganisme.

III.1 Variabel Penelitian

Pada eksperimen ini direncanakan menggunakan kondisi percobaan adalah sebagai berikut :

- Kondisi operasi
- Suhu = 29-30 °C (suhu ruangan)
- Pengambilan sampel = tiap 6 jam selama 90 jam
- Mikroorganisme =
 - o *Zymomonas mobilis* termutasi A3
 - o *Saccharomyces cerevisiae*
 - o *Saccharomyces cerevisiae* dikombinasikan dengan *Pichia stipitis*
 - o *Zymomonas mobilis* termutasi A3 dikombinasikan dengan *Pichia stipitis*.
- Kadar Gula Nira Sorgum = 100 gr/L ; 150 gr/L

III.2 Dimensi Alat

Volume Fermentor : 1,8 L

III.3 Bahan dan Peralatan

III.3.1. Bahan

Zymomonas mobilis A3
Saccharomyces cerevisiae
Pichia stipitis
PDA
Nira Sorghum
Yeast ekstrak (Merck)
Agar-agar batang

III.3.2. Peralatan

Bioreaktor
Pompa Peristaltik
Spektrophotometer
Gas Chromatographi
Inkubator shaker
Autoclave
Analitical Balance

Glukosa (Merck)

KH_2PO_4

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

H_2SO_4

NaK-tartrat

Na-metabisulfit

DNS

Aquadest

Hot plate stirer

Erlenmeyer

Beaker Glass

Gelas Ukur

Kawat ose

Corong Pemisah

Labu ukur

III.4 Prosedur Penelitian

Sebelum melakukan eksperimen pada proses fermentasi, perlu dilakukan tahap penyiapan bahan seperti berikut :

III.4.1 Pengembangan kultur

Zymomonas mobilis termutasi A3

1. Melarutkan 4 gram PDA (Potato Dextrose Agar) dengan aquadest hingga volumenya 100 ml.
2. Mendidihkan sampai suhu 70°C hingga semua agar melarut.
3. Menambahkan H_2SO_4 sampai pH 4-5.
4. Memasukkan dalam tabung reaksi masing-masing 6 ml dan menutup mulut tabung dengan kapas.
5. Mensterilkan dalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit, lalu mendinginkannya dengan posisi miring.
6. Setelah agar mengeras, mengambil biakan murni dengan kawat ose steril dalam incase.
7. Menggoreskan kawat ose pada permukaan media agar yang baru dan menutup kembali dengan kapas.
8. Menginkubasi dalam inkubator pada suhu 30°C selama 24 jam.

Saccharomyces cerevisiae

1. Melarutkan 4 gram PDA (Potato Dextrose Agar) dengan aquadest hingga volumenya 100 ml.
2. Mendidihkan sampai suhu 70°C hingga semua agar melarut.

3. Menambahkan H_2SO_4 sampai pH 4-5.
4. Memasukkan dalam tabung reaksi masing-masing 6 ml dan menutup mulut tabung dengan kapas.
5. Mensterilkan dalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit, lalu mendinginkannya dengan posisi miring.
6. Setelah agar mengeras, mengambil biakan murni dengan kawat ose steril dalam incase.
7. Menggoreskan kawat ose pada permukaan media agar yang baru dan menutup kembali dengan kapas.
8. Menginkubasi dalam inkubator pada suhu 30°C selama 24 jam.

Pichia stipitis

1. Melarutkan 4 gram PDA (Potato Dextrose Agar) dengan aquadest hingga volumenya 100 ml.
2. Mendidihkan sampai suhu 70°C hingga semua agar melarut.
3. Menambahkan H_2SO_4 sampai pH 4-5.
4. Memasukkan dalam tabung reaksi masing-masing 6 ml dan menutup mulut tabung dengan kapas.
5. Mensterilkan dalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit, lalu mendinginkannya dengan posisi miring.
6. Setelah agar mengeras, mengambil biakan murni dengan kawat ose steril dalam incase.
7. Menggoreskan kawat ose pada permukaan media agar yang baru dan menutup kembali dengan kapas.
8. Menginkubasi dalam inkubator pada suhu 30°C selama 24 jam.

III.4.2 Pre-treatment Nira Batang Sorgum

1. Memanaskan nira pada suhu 80°C selama 20 menit, kemudian mendinginkannya hingga suhu ruangan.
2. Kemudian larutan tersebut ditambahkan dengan H_2SO_4 sampai pH 4-5.

3. Melakukan sterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121°C dan tekanan 15 psia selama 15 menit, kemudian mendinginkannya hingga suhu ruangan.
4. Menambahkan 5,19 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, KH_2PO_4 1,53 g, 0.55 gram $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ sebagai media nutrisi.

III.4.3 Pembuatan Starter

1. Menyiapkan nira sorghum sebanyak 180 mL dalam Erlenmeyer.
2. Menambahkan Menambahkan 1 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 1 g KH_2PO_4 0,5 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.55 g dan 10 g *yeast extract*.
3. Melakukan inokulasi mikroorganisme menggunakan ose kedalam nira sorghum.
4. Memasukkan starter kedalam incubator *shaker* dengan suhu 35°C hingga mikroorganisme masuk pada fase log.

III.4.4 Proses Fermentasi

1. Nira yang telah diberi perlakuan pre-treatment dimasukkan di masukkan ke dalam fermentor.
2. Menambahkan 10% starter dari volume fermentor dimana volume fermentor sebesar 1,8 L.
3. Mengambil sampel hasil fermentasi (*broth*) setiap 6 jam sekali selama 90 jam.
4. Menganalisa kadar glukosa sisa pada sampel (*broth*) dengan metode DNS.
5. Menganalisa kadar etanol hasil fermentasi dengan metode GC.

III.5 Analisa Hasil Fermentasi

III.5.1 Analisa Jumlah Sel

Menurut Caprette (2007) metode menghitung jumlah sel menggunakan suatu alat yang disebut dengan *counting chamber* (ruang hitung). Alat ini dapat digunakan untuk menghitung jumlah sel per unit volume. Tipe *counting chamber* yang paling banyak digunakan adalah *haemocytometer*.



Gambar III.1 *Haemacytometer* Neubauer

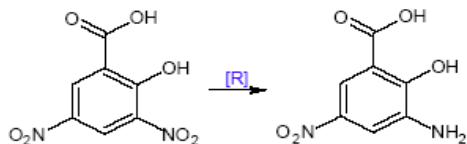
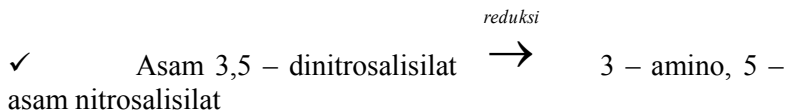
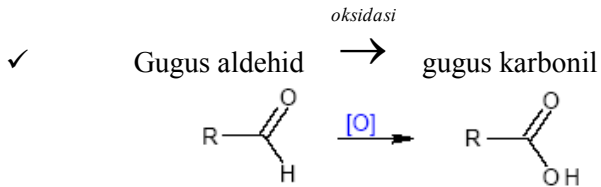
Berikut ini langkah-langkah yang dilakukan untuk analisa jumlah sel bakteri :

1. Mengencerkan 10 ml sampel sebesar 5 – 10 kali atau lebih dengan menggunakan aquades.
2. Meneteskan ke permukaan *counting chamber* hingga dapat menutupi seluruh permukaannya.
3. Kemudian *haemacytometer* diletakkan di bawah lensa mikroskop untuk dihitung jumlah selnya.
4. Melakukan pengamatan di mikroskop dengan perbesaran 400 X.

III.5.2 Analisa Kadar Residu Glukosa

Analisa residu glukosa sebagai gula reduksi dilakukan dengan metode DNS. Dalam analisa ini terlebih dahulu dibuat kurva standar glukosa. Metode DNS adalah metode penentuan kadar gula reduksi dengan menggunakan pereaksi asam 3,5 – dinitrosalisilat. Menurut Miller (1959) metode ini digunakan untuk menguji keberadaan gugus karbonil bebas atau yang biasa disebut dengan gula reduksi. Gugus karbonil didapatkan dari reaksi oksidasi gugus aldehid dalam glukosa atau gugus keton dalam fruktosa. Selain reaksi oksidasi, dalam kondisi basa juga terjadi reaksi reduksi, yaitu asam 3,5 – dinitrosalisilat (DNS) menjadi 3 – amino, 5 – asam nitrosalisilat.

Reaksi yang terjadi adalah sebagai berikut :



Reaksi di atas menunjukkan bahwa 1 mol gula (gugus aldehid) akan bereaksi dengan 1 mol asam 3,5 – dinitrosalisilat. Reaksi oksidasi glukosa dapat dipengaruhi oleh oksigen terlarut, karena itu ditambahkan sulfit ke dalam larutan pereaksi DNS untuk menyerap oksigen terlarut tersebut. Selain itu juga ditambahkan NaOH untuk menciptakan kondisi basa.



Gambar III.2 Analisa kadar residu glukosa dengan metode DNS

Langkah-langkah yang dilakukan untuk analisa kadar residu glukosa :

Prosedur Pembuatan Larutan Standar Glukosa

1. Membuat larutan persediaan dengan cara mencampurkan 0,9 g glukosa dalam 100 mL aquadest.
2. Membuat larutan standar glukosa dengan mengencerkan larutan persediaan (1) dengan pengenceran 1 : 1 (tanpa pengenceran), 1 : 2, 1 : 3, 1 : 4 dan 1 : 5.

Prosedur Pembuatan Larutan DNS

1. Melarutkan 16 g NaOH dalam 200 mL aquades, kemudian ditambahkan 10 g larutan DNS dan diaduk menggunakan stirrer sampai benar-benar larut.
2. Melarutkan 30 g NaK-tartrat dan 8 g Na-metabisulfid kedalam 500 ml aquadest.
3. Mencampurkan larutan (1) dengan (2) dan ditambahkan aquades sampai 1000 mL.

Prosedur Pembuatan Kurva Standar Glukosa

- 1) Mencampurkan 2 mL larutan persediaan yang mengandung glukosa dengan 3 mL larutan DNS.
- 2) Memanaskan campuran dalam air mendidih selama 15 menit.
- 3) Mendinginkan campuran (2) menggunakan es atau air mengalir.

- 4) Mengulangi langkah (1) – (3) untuk konsentrasi larutan glukosa berbeda.
- 5) Mengukur dan mencatat absorbansi pada spektrophotometer dengan panjang gelombang 540 nm.
- 6) Membuat grafik dengan memplot antara kadar glukosa sebagai gula reduksi dengan absorbansi.

Prosedur Pembuatan Larutan Blanko

- a. Mencampurkan 2 mL aquades dengan 3 mL larutan DNS.
- b. Memanaskan campuran dalam air mendidih selama 5 menit.
- c. Mendinginkan campuran (2) menggunakan es atau air mengalir.

Prosedur Analisa Sampel

1. Mencampurkan larutan sampel yang telah diencerkan 50 kali menggunakan aquades dengan 3 mL larutan DNS.
2. Memanaskan campuran dalam air mendidih selama 15 menit.
3. Mendinginkan campuran (2) menggunakan es atau air mengalir.
4. Mengulangi langkah (1) – (3) untuk sampel yang berbeda.
5. Mengukur dan mencatat absorbansi pada spektrophotometer dengan panjang gelombang 540 nm.
6. Mensubstitusi absorbansi yang diperoleh dengan persamaan dari kurva standar glukosa.

III.6 Peralatan Fermentasi

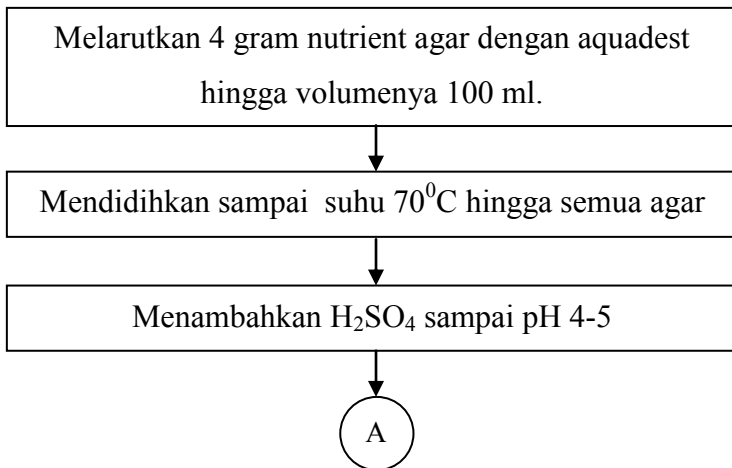


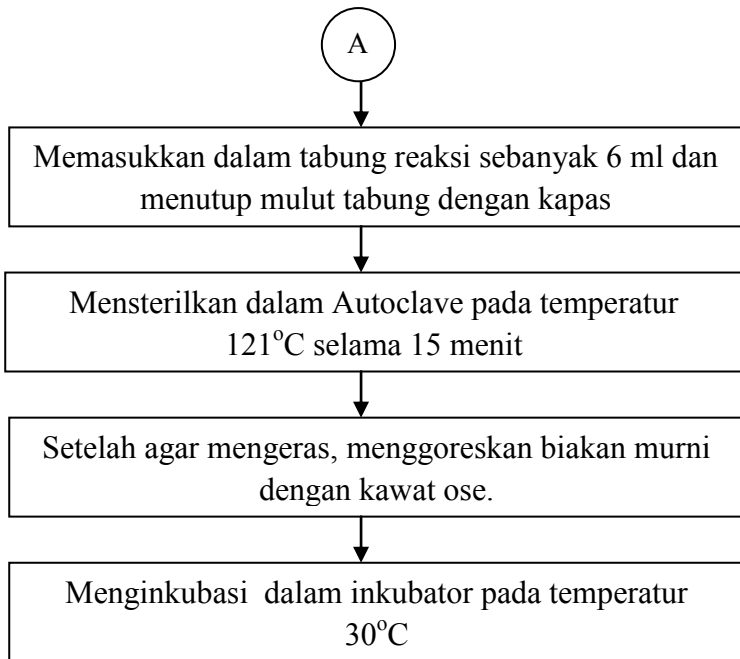
Gambar III.3 Peralatan Fermentasi

III.7 Diagram Alir

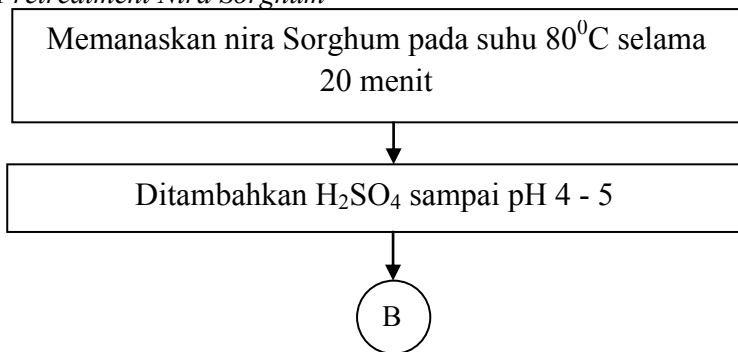
III.7.1 Tahap Persiapan

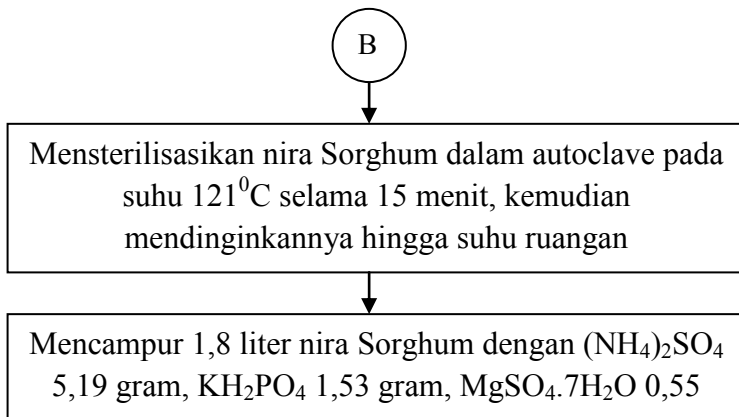
Pengembangan Kultur



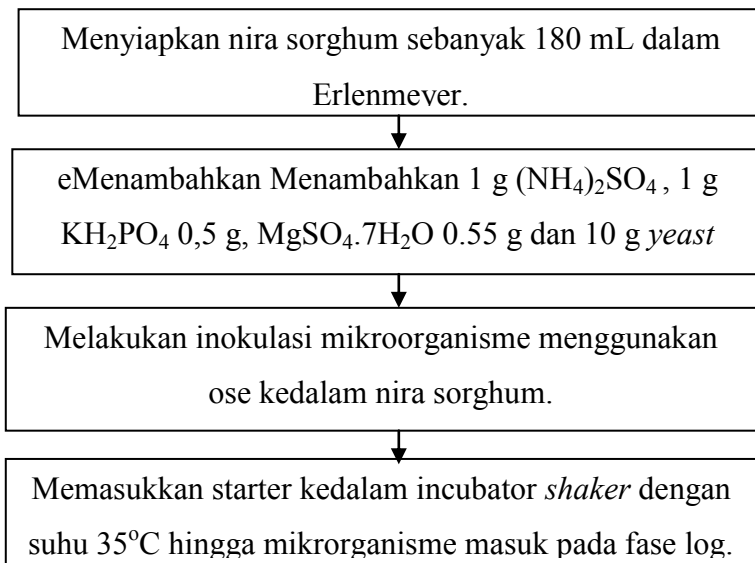


Pretreatment Nira Sorghum

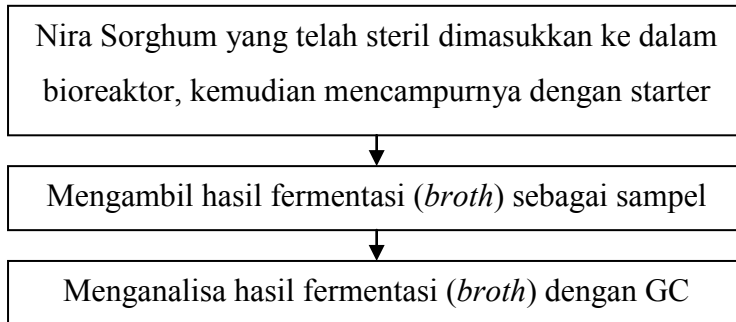




Pembuatan Starter

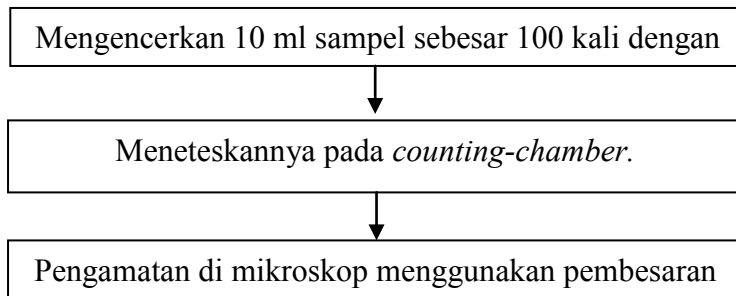


III.7.2 Fermentasi

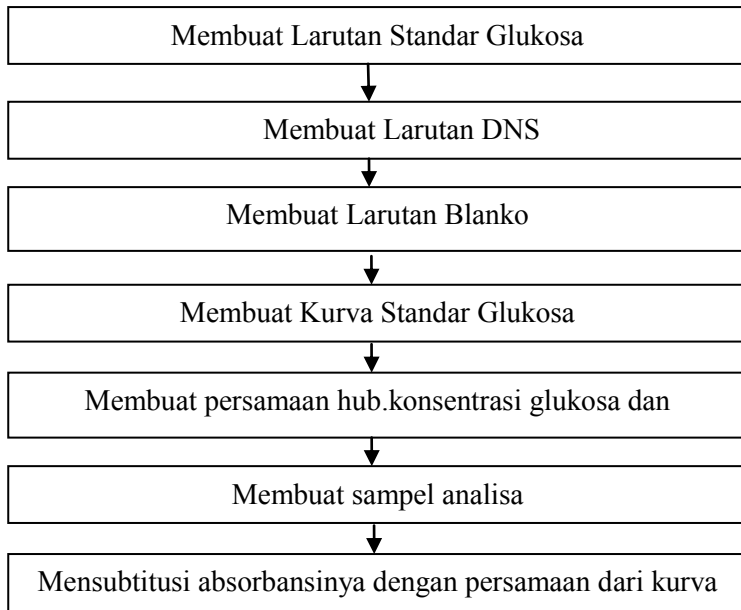


III.7.3 Analisa Hasil Fermentasi

Perhitungan jumlah sel



Analisa Kadar Residu Glukosa



Halaman ini sengaja dikosongkan

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

Fermentasi *batch* merupakan fermentasi dengan cara memasukan media dan inokulum secara bersamaan ke dalam bioreaktor dan pengambilan produk dilakukan pada akhir fermentasi. Pada *system batch*, bahan media dan inokulum dalam waktu yang hampir bersamaan di masukan ke dalam *bioreactor*, dan pada saat proses berlangsung akan terjadi perubahan kondisi di dalam *bioreactor*.

Sebelum penelitian dilakukan, terlebih dahulu dilakukan pengukuran kadar gula reduksi dalam nira sorgum. Terdapat dua metode pengukuran kadar gula reduksi di dalam nira sorgum. Pertama dengan menggunakan analisa *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dan yang kedua menggunakan metode DNS (asam 3,5-dinitrosalisilat). Hasil analisa HPLC dapat terlihat pada tabel IV.1:

Sampel	Analit	Kadar Rata – Rata (%b/v)
Nira Sorgum	Fruktosa	-
	Glukosa	4,53
	Sukrosa	13,1
	Xylosa	1,48

Sumber : Hasil Analisa HPLC Unit Layanan Pengujian UNAIR

Tabel IV.1 Hasil Analisa HPLC Nira Sorgum

IV.1 Kinerja Mikroorganisme

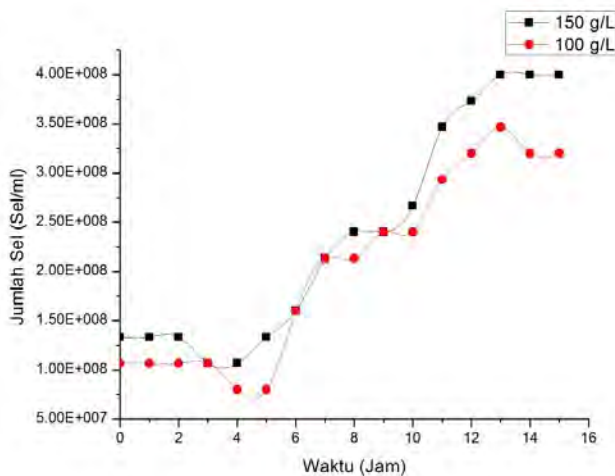
Pada proses fermentasi dilakukan analisa pertumbuhan bakteri dengan menggunakan metode *Counting Chamber* untuk mengetahui proses fermentasi berjalan dengan baik.

IV.1.1 *Zymomonas mobilis* Termutasi A3

Zymomonas mobilis A3, yaitu bakteri *Zymomonas mobilis* yang dimutasi menggunakan mutagen hydroxylamine yang diseleksi pada media asam sehingga membentuk karakteristik tahan terhadap asam. Kelebihan *Zymomonas mobilis* A3 yaitu,

memiliki toleransi suhu yang tinggi, kemampuan untuk mencapai konversi yang lebih cepat, lebih tahan terhadap kadar ethanol yang tinggi yang dihasilkan pada proses fermentasi apabila dibandingkan *Zymomonas mobilis* yang tak termutasi (Putra, S.R dan Chrisnawati, A.,2008).

Kondisi pH optimum untuk fermentasi menggunakan *Z.mobilis* termutasi adalah 4-5. Ciri-ciri bakteri *strain* ini dengan pH optimum 4,5, morfologi lebih besar dengan gerakan yang lebih sedikit, serta memiliki fase adaptasi kurang lebih 3 jam. Sehingga hal ini menjadi keuntungan tersendiri jika dibandingkan dengan *Zymomonas mobilis* biasa dalam proses produksi bioetanol. Berikut adalah grafik logaritmik pertumbuhan *Zymomonas mobilis* termutasi A3.



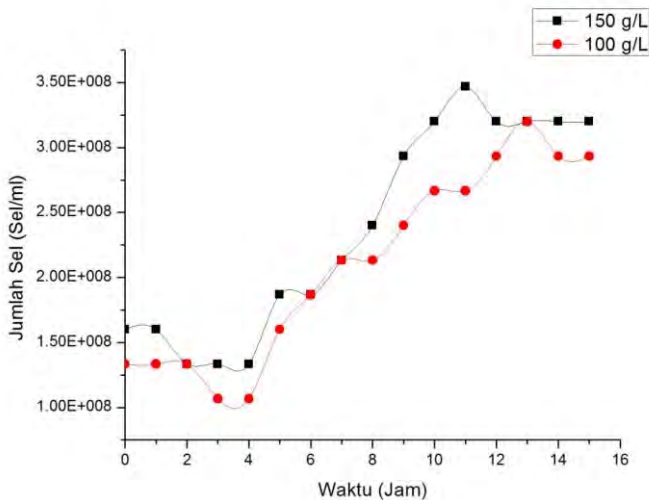
Gambar IV.1 Grafik Pertumbuhan *Zymomonas mobilis* Termutasi A3

Gambar IV.1 merupakan grafik pertumbuhan *Zymomonas mobilis* Termutasi A3, diketahui bahwa pada kadar gula awal 150 g/L *Zymomonas Mobilis* Termutasi A3 mulai tumbuh pada jam ke-4 sebesar 106666666,7 sel/ml hingga jam ke-13 sebesar 400000000 sel/ml yang berarti mikroorganisme ini

mengalami *balance growth* atau disebut *log phase*. *Zymomonas mobilis* Termutasi A3 tumbuh konstan hingga jam ke- 15 menjadi 400000000 sel/mL. Pada kadar gula awal 100 g/L *Zymomonas mobilis* Termutasi A3 mulai tumbuh pada jam ke-5 sebesar 80000000 sel/ml hingga jam ke-13 sebesar 320000000 sel/ml yang berarti mikroorganisme ini mengalami *balance growth* atau disebut *log phase*. *Zymomonas mobilis* Termutasi A3 tumbuh konstan hingga jam ke- 15 menjadi 320000000 sel/mL. Fase lag *Zymomonas mobilis* terjadi pada jam ke-0 sampai jam ke-4. Pada fase ini *Zymomonas mobilis* beradaptasi pada lingkungan medium yang baru sehingga pertumbuhannya berjalan lambat. Fase logaritmik terjadi pada kisaran jam ke-4 sampai jam ke-20. Pada fase ini pertumbuhan *Zymomonas mobilis* berlangsung paling cepat karena terjadi katabolisme substrat dalam jumlah besar yang digunakan untuk pertumbuhan, sintesis enzim dan sintesis senyawa lainnya (Ernes et al.,2014).

IV.1.2 *Pichia stipitis*

. *Pichia stipitis* memiliki kapasitas tertinggi untuk fermentasi xylose dari setiap mikroba yang dikenal. Strain *P. stipitis* adalah yang terbaik dalam xylose-fermentasi ragi dalam koleksi kultur sejenis. *Pichia stipitis* memiliki beberapa kekurangan, diantaranya adalah tidak tahan dengan konsentrasi tinggi dari etanol yang dihasilkan. *Pichia stipitis* memiliki beberapa kelebihan dibandingkan *Saccaromyces cerevisiae* dan *Zymomonas mobilis*, diantaranya lebih toleran terhadap suhu, dimana dapat melakukan proses fermentasi pada suhu ruangan, pH rendah.

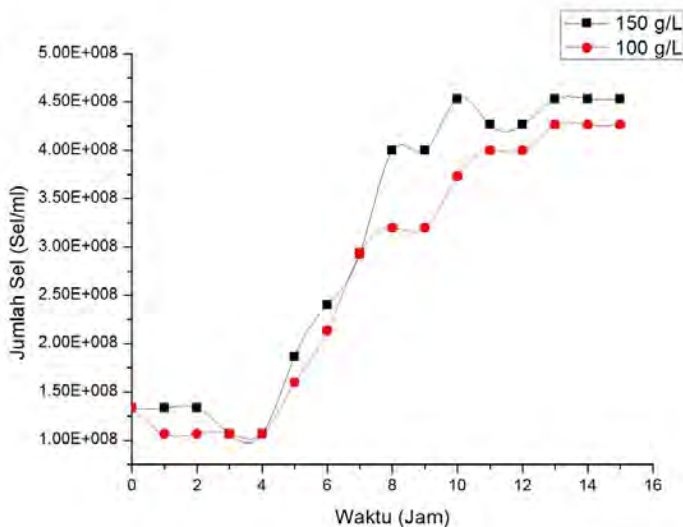


Gambar IV.2 Grafik Pertumbuhan *Pichia stipitis*

Gambar IV.2 merupakan kurva pertumbuhan *Pichia stipitis*. diketahui bahwa pada kadar gula awal 150 g/L *Pichia stipitis* mulai tumbuh pada jam ke-4 sebesar 133333333 sel/ml hingga jam ke-11 sebesar 346666667 sel/ml yang berarti mikroorganisme ini mengalami *balance growth* atau disebut *log phase*. *Pichia stipitis* tumbuh konstan dari jam 12 hingga jam ke-15 menjadi 320000000 sel/mL. Pada kadar gula awal 100 g/L *Pichia stipitis* mulai tumbuh pada jam ke-4 sebesar 106666667 sel/ml hingga jam ke-13 sebesar 320000000 sel/ml yang berarti mikroorganisme ini mengalami *balance growth* atau disebut *log phase*. *Pichia Stipitis* tumbuh konstan hingga jam ke- 15 menjadi 293333333 sel/mL. Sel-sel mulai membelah dan memasuki masa pertumbuhan atau peningkatan logaritmik, yang disebut *log phase* atau *exponential growth phase* (*Microbiology an introduction, 10thed*).

IV.1.3 *Saccharomyces cerevisiae*

Ragi roti mengandung enzim yang langsung berkaitan dengan fermentasi ada 3 yaitu maltase, invertase, dan zimase. Maltase mengubah maltose menjadi glukosa. Invertase mengubah sukrosa menjadi fruktosa dan glukosa. Zimase mengubah fruktosa dan glukosa menjadi gas karbondioksida. *Saccharomyces cerevisiae* merupakan mikroorganisme bersel satu, tidak berklorofil, termasuk kelompok *Eumycetes*. Beberapa kelebihan *Saccharomyces cerevisiae* dalam proses fermentasi adalah mikroorganisme ini cepat berkembang biak, tahan terhadap suhu yang tinggi, mempunyai sifat stabil dan cepat mengadakan adaptasi. Oleh karena itu dilakukan pemilihan mikroorganisme *Saccharomyces cerevisiae*. Berikut merupakan kurva perumbuhan untuk jenis mikroorganisme *Saccharomyces cerevisiae*.



Gambar IV.3 Grafik Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae*

Gambar IV.1 merupakan grafik pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae*, diketahui bahwa pada kadar gula awal 150 g/L *Saccharomyces cerevisiae* mulai tumbuh pada jam ke-4 sebesar 106666666,7 sel/ml hingga jam ke-13 sebesar 453333333 sel/ml yang berarti mikroorganisme ini mengalami *balance growth* atau disebut *log phase*. *Saccharomyces cerevisiae* tumbuh konstan hingga jam ke- 15 menjadi 453333333 sel/mL. Pada kadar gula awal 100 g/L *Saccharomyces cerevisiae* mulai tumbuh pada jam ke-4 sebesar 106666666,7 sel/ml hingga jam ke-13 sebesar 426666667 sel/ml yang berarti mikroorganisme ini mengalami *balance growth* atau disebut *log phase*. *Saccharomyces cerevisiae* tumbuh konstan hingga jam ke- 15 menjadi 426666667 sel/mL. *Saccharomyces cerevisiae* mengalami fase lag pada jam ke-0 sampai jam ke-4, kemudian mengalami fase log pada jam ke-4 sampai jam ke-16 dimana sel tumbuh sangat cepat dan jumlah sel bertambah mengikuti kurva logaritmik. Pada jam ke-16 hingga ke-24, *Saccharomyces cerevisiae* mengalami fase stasioner dimana jumlah sel relatif tetap karena terbatasnya jumlah substrat sehingga sel hidup sama dengan sel yang mati (Wardani dan Pertiwi,2013).

Perbedaan antara kurva pertumbuhan *Zymomonas mobilis* dengan *Saccharomyces cerevisiae* terlihat bahwa *Saccharomyces cerevisiae* cepat mengalami kondisi *Log phase*. Hal tersebut disebabkan kemampuan adaptasi *Zymomonas mobilis* yang lebih lambat dibandingkan *Saccharomyces cerevisiae*, karena *Zymomonas mobilis* mempunyai morfologi yang lebih besar dengan gerakan yang lebih pelan, menyebabkan kemampuan adaptasi dan proses metabolismenya juga menjadi lambat (Rosa Putra, 2008).

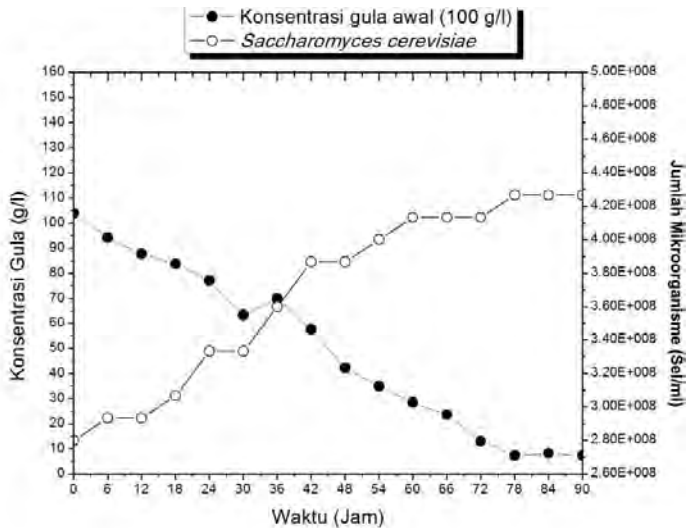
IV.2 Pengaruh Jenis Mikroorganisme terhadap Performa Fermentasi

IV.2.1 Pertumbuhan Mikroorganisme dan Konsentrasi Gula terhadap Waktu Fermentasi

Untuk mengetahui pengaruh jenis mikroorganisme terhadap performa proses fermentasi melalui pembahasan dengan

melihat pertumbuhan mikroorganisme. Pertumbuhan mikroorganisme dapat dilihat dengan menggunakan metode *counting chamber*.

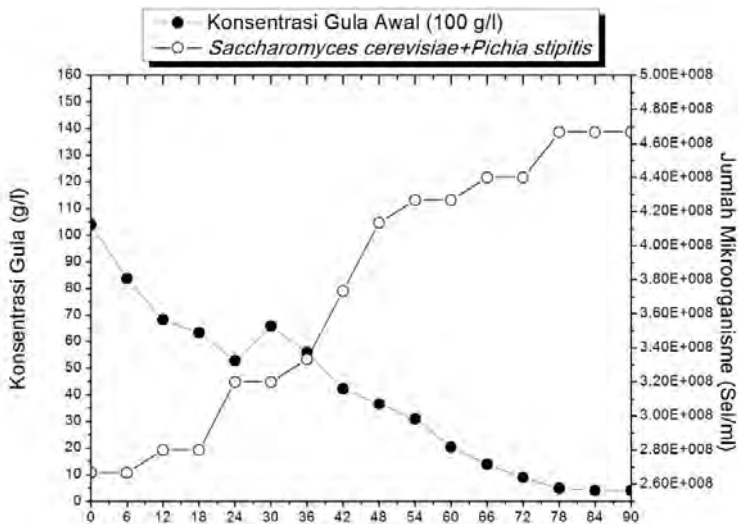
Berikut ini adalah grafik pertumbuhan masing-masing mikroorganisme yang digunakan dalam fermentasi



Gambar IV.4 Grafik Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* dan Penurunan Konsentrasi Gula terhadap Waktu pada Fermentasi dengan Konsentrasi Gula Awal 100 g/L.

Gambar IV.4 menunjukkan pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* dan penurunan konsentrasi gula pada fermentasi dengan konsentrasi gula awal 100 g/L. Jumlah sel *Saccharomyces cerevisiae* pada jam ke-0 sebesar 280000000 sel/mL mengalami pertumbuhan hingga jam ke-78 sebesar 426666667 sel/mL seiring dengan penurunan konsentrasi gula dari jam ke-0 sebesar 103,872 g/L hingga jam ke-78 menjadi 7,304 g/L. Setelah itu baik jumlah sel dan konsentrasi gula tidak mengalami perubahan. Menurunnya konsentrasi gula reduksi pada fermentasi disebabkan oleh gula yang terdapat dalam media

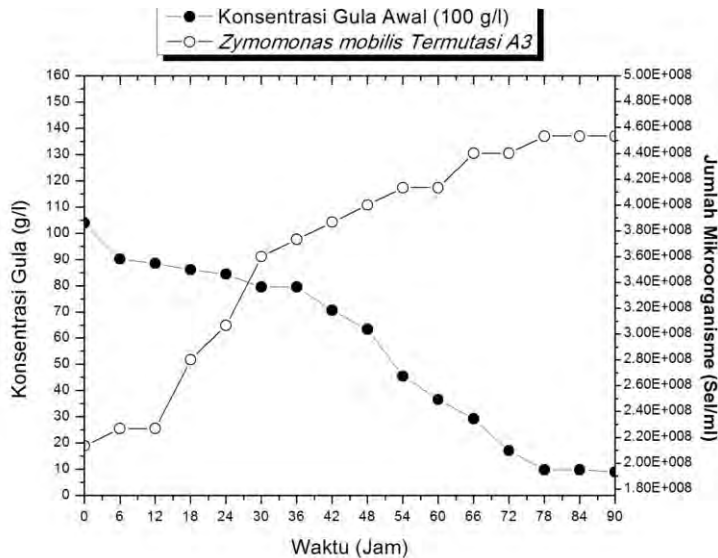
digunakan sebagai sumber karbon bagi mikroorganisme untuk mensintesis energi melalui proses fermentasi etanol (Putri dan Sukandar, 2008).



Gambar IV.5 Grafik Pertumbuhan Campuran *Saccharomyces cerevisiae* + *Pichia stipitis* dan Penurunan Konsentrasi Gula terhadap Waktu pada Fermentasi dengan Konsentrasi Gula Awal 100 g/L.

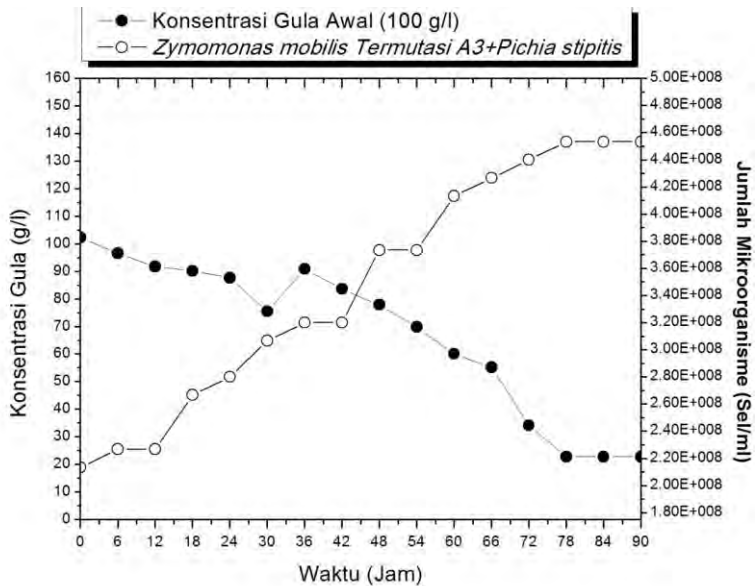
Gambar IV.5 menunjukkan pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* + *Pichia stipitis* dan penurunan konsentrasi gula pada fermentasi dengan konsentrasi gula awal 100 g/L. *Saccharomyces cerevisiae* + *Pichia Stipitis* pada jam ke-0 sebesar 266666667 sel/mL mengalami pertumbuhan hingga jam ke-78 sebesar 466666667 sel/mL seiring dengan penurunan konsentrasi gula dari jam ke-0 sebesar 103,87 g/L hingga jam ke-78 menjadi 4,87 g/L. Menurunnya konsentrasi gula reduksi pada fermentasi disebabkan oleh gula yang terdapat dalam media digunakan sebagai sumber karbon bagi mikroorganisme untuk

mensintesis energi melalui proses fermentasi etanol (Putri dan Sukandar, 2008).



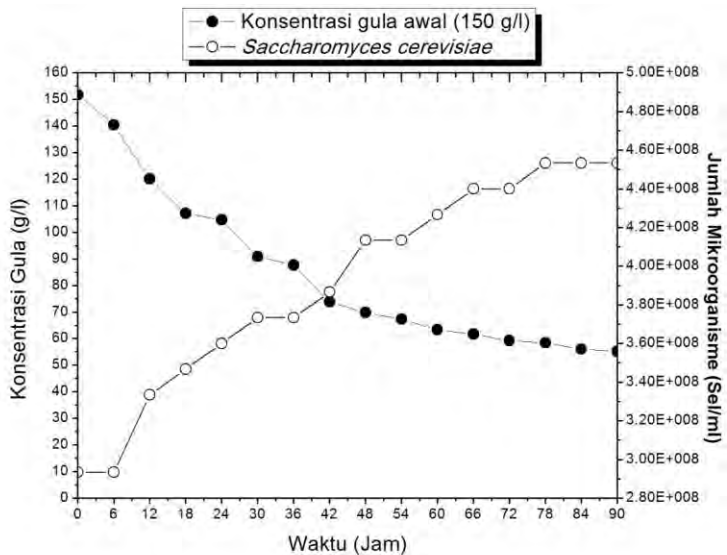
Gambar IV.6 Grafik Pertumbuhan *Zymomonas mobilis* A3 dan Penurunan Konsentrasi Gula terhadap Waktu pada Fermentasi dengan Konsentrasi Gula Awal 100 g/L.

Gambar IV.6 menunjukkan pertumbuhan *Zymomonas mobilis* A3 dan penurunan konsentrasi gula pada fermentasi dengan konsentrasi gula awal 100 g/L. pada jam ke-0 sebesar 266666667 sel/mL mengalami pertumbuhan hingga jam ke-78 sebesar 466666667 sel/mL seiring dengan penurunan konsentrasi gula dari jam ke-0 sebesar 102,249 g/L hingga jam ke-78 menjadi 22,72 g/L. Menurunnya konsentrasi gula reduksi pada fermentasi disebabkan oleh gula yang terdapat dalam media digunakan sebagai sumber karbon bagi mikroorganisme untuk mensintesis energi melalui proses fermentasi etanol (Putri dan Sukandar, 2008).



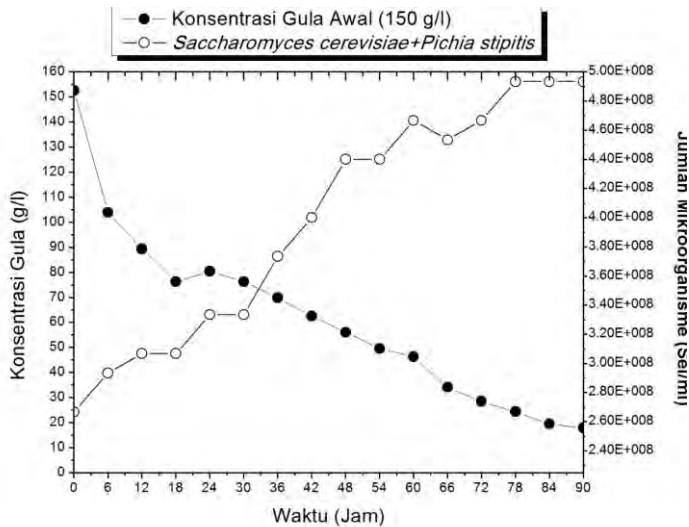
Gambar IV.7 Grafik Pertumbuhan Campuran *Zymomonas mobilis* A3 + *Pichia stipitis* dan Penurunan Konsentrasi Gula terhadap Waktu pada Fermentasi dengan Konsentrasi Gula Awal 100 g/L.

Gambar IV.7 menunjukkan pertumbuhan Campuran *Zymomonas mobilis* A3 + *Pichia stipitis* dan penurunan konsentrasi gula pada fermentasi dengan konsentrasi gula awal 100 g/L. pada jam ke-0 sebesar 213333333 sel/mL mengalami pertumbuhan hingga jam ke-78 sebesar 453333333 sel/mL seiring dengan penurunan konsentrasi gula dari jam ke-0 sebesar 102,249 g/L hingga jam ke-78 menjadi 22,72 g/L. Menurunnya konsentrasi gula reduksi pada fermentasi disebabkan oleh gula yang terdapat dalam media digunakan sebagai sumber karbon bagi mikroorganisme untuk mensintesis energi melalui proses fermentasi etanol (Putri dan Sukandar, 2008).



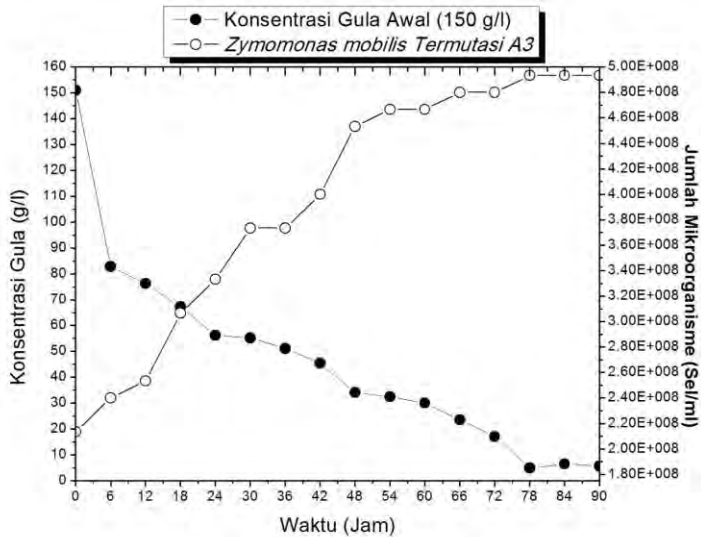
Gambar IV.8 Grafik Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* dan Penurunan Konsentrasi Gula terhadap Waktu pada Fermentasi dengan Konsentrasi Gula Awal 150 g/L.

Gambar IV.8 menunjukkan pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* dan penurunan konsentrasi gula pada fermentasi dengan konsentrasi gula awal 150 g/L. Jumlah sel *Saccharomyces cerevisiae* pada jam ke-0 sebesar 266666667 sel/mL mengalami pertumbuhan hingga jam ke-78 sebesar 493333333 sel/mL seiring dengan penurunan konsentrasi gula dari jam ke-0 sebesar 151,75 g/L hingga jam ke-78 menjadi 55,182 g/L. Setelah itu baik jumlah sel dan konsentrasi gula tidak mengalami perubahan. Menurunnya konsentrasi gula reduksi pada fermentasi disebabkan oleh gula yang terdapat dalam media digunakan sebagai sumber karbon bagi mikroorganisme untuk mensintesis energi melalui proses fermentasi etanol (Putri dan Sukandar, 2008).



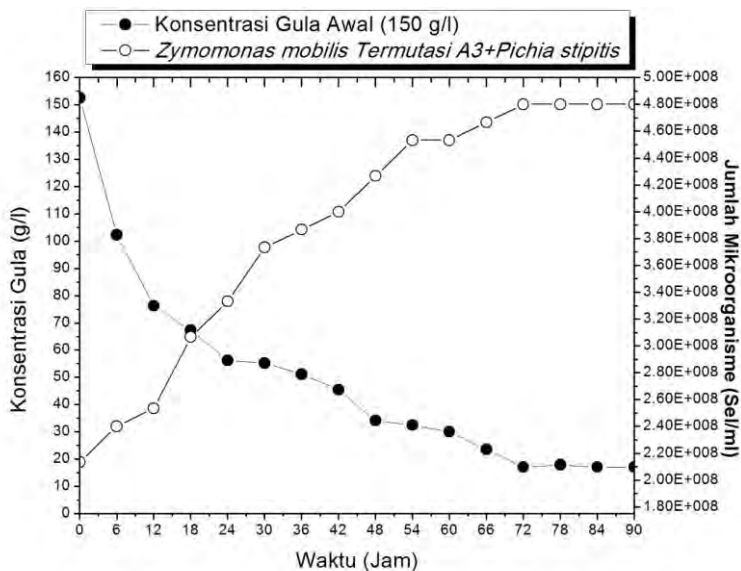
Gambar IV.9 Grafik Pertumbuhan Campuran *Saccharomyces cerevisiae* + *Pichia stipitis* dan Penurunan Konsentrasi Gula terhadap Waktu pada Fermentasi dengan Konsentrasi Gula Awal 150 g/L.

Gambar IV.9 menunjukkan pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* + *Pichia stipitis* dan penurunan konsentrasi gula pada fermentasi dengan konsentrasi gula awal 150 g/L. *Saccharomyces cerevisiae* + *Pichia Stipitis* pada jam ke-0 sebesar 266666667 sel/mL mengalami pertumbuhan hingga jam ke-78 sebesar 466666667 sel/mL seiring dengan penurunan konsentrasi gula dari jam ke-0 sebesar 152,56 g/L hingga jam ke-78 menjadi 24,345 g/L. Menurunnya konsentrasi gula reduksi pada fermentasi disebabkan oleh gula yang terdapat dalam media digunakan sebagai sumber karbon bagi mikroorganisme untuk mensintesis energi melalui proses fermentasi etanol (Putri dan Sukandar, 2008).



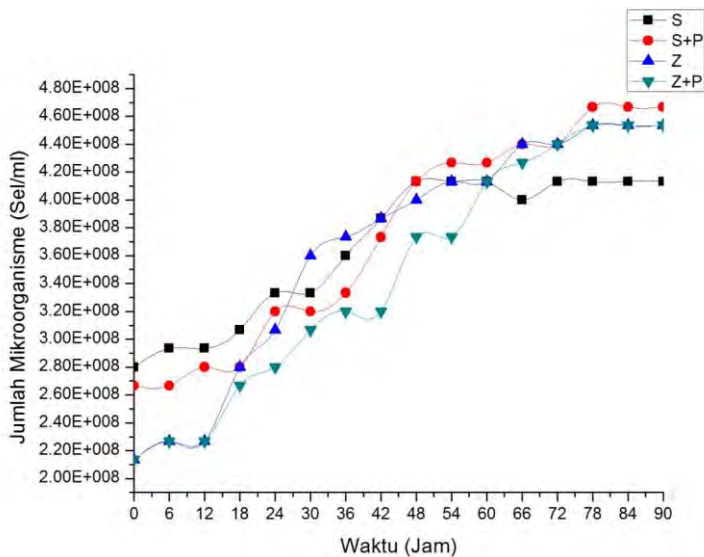
Gambar IV.10 Grafik Pertumbuhan *Zymomonas mobilis* A3 dan Penurunan Konsentrasi Gula terhadap Waktu pada Fermentasi dengan Konsentrasi Gula Awal 150 g/L.

Gambar IV.10 menunjukkan pertumbuhan *Zymomonas mobilis* A3 dan penurunan konsentrasi gula pada fermentasi dengan konsentrasi gula awal 150 g/L. pada jam ke-0 sebesar 266666667 sel/mL mengalami pertumbuhan hingga jam ke-78 sebesar 466666667 sel/mL seiring dengan penurunan konsentrasi gula dari jam ke-0 sebesar 150,939 g/L hingga jam ke-78 menjadi 4,869 g/L. Menurunnya konsentrasi gula reduksi pada fermentasi disebabkan oleh gula yang terdapat dalam media digunakan sebagai sumber karbon bagi mikroorganisme untuk mensintesis energi melalui proses fermentasi etanol (Putri dan Sukandar, 2008).



Gambar IV.11 Grafik Pertumbuhan Campuran *Zymomonas mobilis* A3 + *Pichia stipitis* dan Penurunan Konsentrasi Gula terhadap Waktu pada Fermentasi dengan Konsentrasi Gula Awal 150 g/L.

Gambar IV.11 menunjukkan pertumbuhan Campuran *Zymomonas mobilis* A3 + *Pichia stipitis* dan penurunan konsentrasi gula pada fermentasi dengan konsentrasi gula awal 150 g/L. pada jam ke-0 sebesar 21333333 sel/mL mengalami pertumbuhan hingga jam ke-78 sebesar 480000000 sel/mL seiring dengan penurunan konsentrasi gula dari jam ke-0 sebesar 152,562 g/L hingga jam ke-78 menjadi 17,04 g/L. Menurunnya konsentrasi gula reduksi pada fermentasi disebabkan oleh gula yang terdapat dalam media digunakan sebagai sumber karbon bagi mikroorganisme untuk mensintesis energi melalui proses fermentasi etanol (Putri dan Sukandar, 2008).

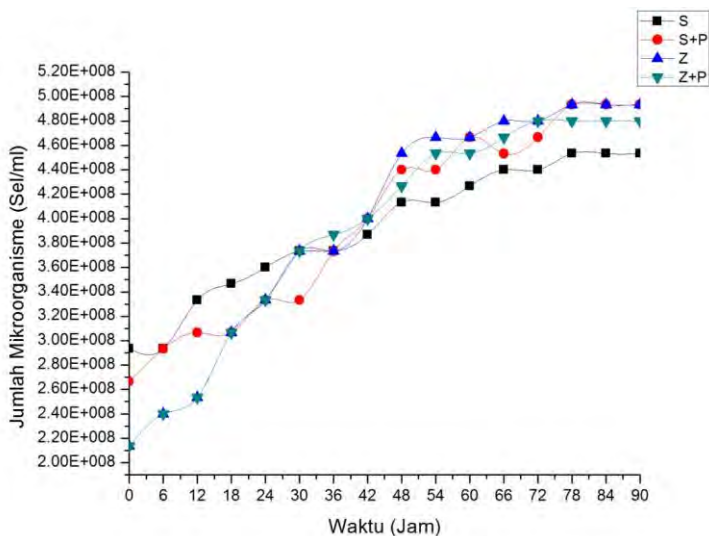


Gambar IV.12 Grafik Pertumbuhan Tiap Jenis Mikroorganisme pada Fermentasi dengan Konsentrasi Gula Awal 100 g/L.

Gambar IV.12 menunjukkan pertumbuhan tiap jenis mikroorganisme pada fermentasi dengan konsentrasi gula awal 100 g/L. Pada waktu fermentasi jam ke-0 hingga ke-12 tiap jenis mikroorganisme belum mengalami pertumbuhan signifikan. Pada waktu fermentasi jam ke-12 hingga ke-36 untuk *Saccharomyces cerevisiae* mengalami pertumbuhan dari 293333333 sel/ml menjadi 360000000 sel/ml; campuran *Saccharomyces cerevisiae*+*Pichia Stipitis* mengalami pertumbuhan dari 280000000 sel/ml menjadi 333333333 sel/ml; *Zymomonas mobilis* A3 mengalami pertumbuhan dari 226666667 sel/ml menjadi 373333333 sel/ml; *Zymomonas mobilis* A3+*Pichia Stipitis* mengalami pertumbuhan dari 226666667 sel/ml menjadi 320000000 sel/ml. Pertumbuhan mikroorganisme untuk jam ke-12 hingga ke-36 yang paling signifikan ditunjukkan oleh *Zymomonas mobilis* A3.

Pada waktu fermentasi jam ke-36 hingga ke-60 untuk *Saccharomyces cerevisiae* mengalami pertumbuhan dari 360000000 sel/ml menjadi 413333333 sel/ml; campuran *Saccharomyces cerevisiae*+*Pichia Stipitis* mengalami pertumbuhan dari 333333333 sel/ml menjadi 426666667 sel/ml; *Zymomonas mobilis* A3 mengalami pertumbuhan dari 373333333 sel/ml menjadi 413333333 sel/ml; *Zymomonas mobilis* A3+*Pichia Stipitis* mengalami pertumbuhan dari 320000000 sel/ml menjadi 413333333 sel/ml. Pertumbuhan mikroorganisme untuk jam ke-36 hingga ke-60 yang signifikan ditunjukkan oleh campuran *Saccharomyces cerevisiae*+*Pichia Stipitis* dan *Zymomonas mobilis* A3+*Pichia Stipitis*.

Pada waktu fermentasi jam ke-60 hingga ke-78 untuk *Saccharomyces cerevisiae* mengalami pertumbuhan dari 360000000 sel/ml menjadi 413333333 sel/ml; campuran *Saccharomyces cerevisiae*+*Pichia Stipitis* mengalami pertumbuhan dari 426666667 sel/ml menjadi 466666667 sel/ml; *Zymomonas mobilis* A3 mengalami pertumbuhan dari 413333333 sel/ml menjadi 453333333 sel/ml; campuran *Zymomonas mobilis* A3+*Pichia Stipitis* mengalami pertumbuhan dari 413333333 sel/ml menjadi 453333333 sel/ml. Pertumbuhan mikroorganisme untuk jam ke-60 hingga ke-78 campuran *Saccharomyces cerevisiae*+*Pichia Stipitis*, *Zymomonas mobilis* A3 dan *Zymomonas mobilis* A3+*Pichia Stipitis* memiliki jumlah pertumbuhan yang sama sedangkan untuk pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* telah berhenti di jam ke-72.



Gambar IV.13 Grafik Pertumbuhan Tiap Jenis Mikroorganisme pada Fermentasi dengan Konsentrasi Gula Awal 150 g/L.

Gambar IV.13 menunjukkan pertumbuhan tiap jenis mikroorganisme pada fermentasi dengan konsentrasi gula awal 150 g/L. Pada waktu fermentasi jam ke-0 hingga ke-24 untuk *Saccharomyces cerevisiae* mengalami pertumbuhan dari 293333333 sel/ml menjadi 360000000 sel/ml; campuran *Saccharomyces cerevisiae*+*Pichia Stipitis* mengalami pertumbuhan dari 266666667 sel/ml menjadi 333333333 sel/ml; *Zymomonas mobilis* A3 mengalami pertumbuhan dari 213333333 sel/ml menjadi 333333333 sel/ml; campuran *Zymomonas mobilis* A3+*Pichia Stipitis* mengalami pertumbuhan dari 213333333 sel/ml menjadi 333333333 sel/ml. Pertumbuhan mikroorganisme untuk jam ke-0 hingga ke-24 yang signifikan ditunjukkan oleh *Zymomonas mobilis* A3 dan campuran *Zymomonas mobilis* A3+*Pichia Stipitis*.

Pada waktu fermentasi jam ke-24 hingga ke-48 untuk *Saccharomyces cerevisiae* mengalami pertumbuhan dari 360000000 sel/ml menjadi 413333333 sel/ml; campuran

Saccharomyces cerevisiae+*Pichia Stipitis* mengalami pertumbuhan dari 33333333 sel/ml menjadi 440000000 sel/ml; *Zymomonas mobilis* A3 mengalami pertumbuhan dari 33333333 sel/ml menjadi 45333333 sel/ml; *Zymomonas mobilis* A3+*Pichia Stipitis* mengalami pertumbuhan dari 33333333 sel/ml menjadi 426666667 sel/ml. Pertumbuhan mikroorganisme untuk jam ke-36 hingga ke-60 yang signifikan ditunjukkan oleh campuran *Zymomonas mobilis* A3.

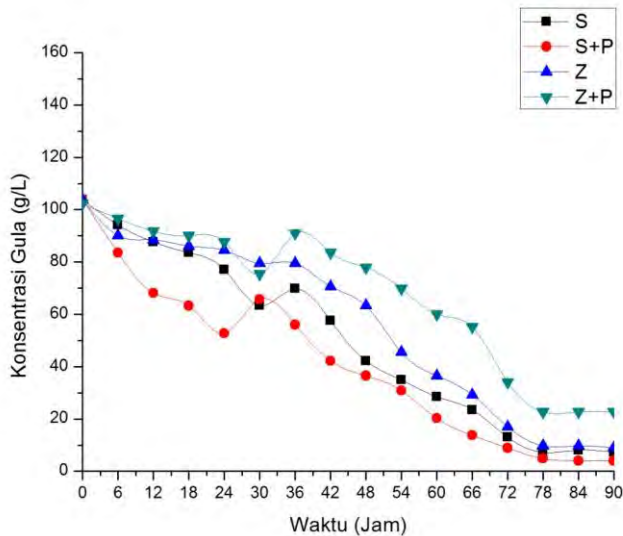
Pada waktu fermentasi jam ke-48 hingga ke-78 untuk *Saccharomyces cerevisiae* mengalami pertumbuhan dari 41333333 sel/ml menjadi 45333333 sel/ml; campuran *Saccharomyces cerevisiae*+*Pichia Stipitis* mengalami pertumbuhan dari 440000000 sel/ml menjadi 493333333 sel/ml; *Zymomonas mobilis* A3 mengalami pertumbuhan dari 45333333 sel/ml menjadi 493333333 sel/ml; campuran *Zymomonas mobilis* A3+*Pichia Stipitis* mengalami pertumbuhan dari 426666667 sel/ml menjadi 480000000 sel/ml. Pertumbuhan mikroorganisme untuk jam ke-60 hingga ke-78 campuran *Saccharomyces cerevisiae*+*Pichia Stipitis* dan *Zymomonas mobilis* A3+*Pichia Stipitis*.

IV.2.2 Penurunan Konsentrasi Gula Tiap Jenis Mikroorganisme pada Fermentasi

Untuk mengetahui pengaruh jenis mikroorganisme terhadap performa proses fermentasi, dilakukan pembahasan yaitu dengan melihat perilaku atau performa mikroorganisme dalam mengkonversi gula menjadi etanol.

Menggunakan metode DNS dimana metode ini adalah metode yang menggunakan reagen asam 3-5 dinitrosalisilat untuk mengetahui kandungan gula-gula pereduksi.

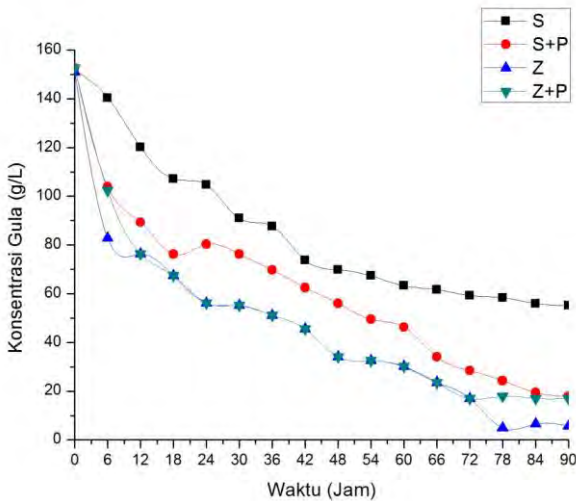
Berikut ini adalah grafik konsentrasi gula reduksi yang difermentasi oleh masing-masing jenis mikroorganisme.



Gambar IV.14 Grafik Gula Reduksi sebagai Fungsi Waktu pada Fermentasi tiap Jenis Mikroorganisme dengan Konsentrasi Gula Awal 100 g/L

Gambar IV.14 menunjukkan perubahan konsentrasi gula pada proses fermentasi tiap jenis mikroorganisme dengan konsentrasi gula awal 100 g/L. Pada *Saccharomyces cerevisiae* konsentrasi gula tersisa sebesar 7,304 g/L ; campuran *Saccharomyces cerevisiae*+*Pichia Stipitis* konsentrasi gula tersisa 4,058 g/L ; *Zymomonas mobilis A3* konsentrasi gula tersisa 8,927 g/L ; campuran *Zymomonas mobilis A3*+*Pichia Stipitis* konsentrasi gula tersisa 22,722 g/L. Penurunan konsentrasi gula tertinggi terdapat pada campuran *Saccharomyces cerevisiae*+*Pichia Stipitis* sebesar 99,815 g/L. Proses fermentasi menggunakan campuran *S. cerevisiae* dan *P. stipitis* dapat mengoptimalkan proses penguraian glukosa dan xilosa sehingga menghasilkan etanol yang lebih banyak. Adanya campuran strain ini selain mampu menghasilkan lebih banyak etanol karena adanya dua sumber gula yaitu glukosa dan xilosa, kedua strain ini

juga bekerja secara sinergi. Terbentuknya xylitol yang merupakan inhibitor bagi kinerja *P.stipitis* akan dapat teratasi dengan penambahan strain *Saccharomyces cerevisiae* untuk membantu proses fermentasi asam piruvat menjadi etanol (Widjaja et all,2012). *Zymomonas mobilis* mempunyai morfologi yang lebih besar dengan gerakan yang lebih pelan dan lebih tahan terhadap kondisi asam disbanding kondisi awal. *Zymomonas mobilis* A3 memiliki pH optimum sebesar 4,5 (Rosa Putra,2008).



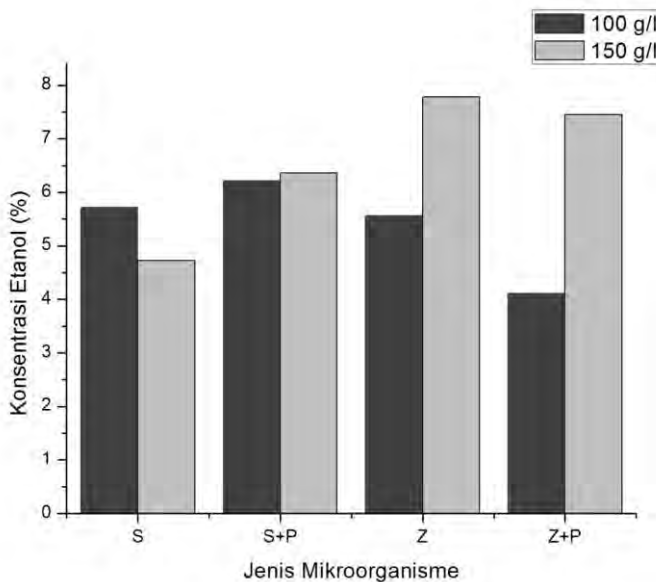
Gambar IV.15 Grafik Gula Reduksi sebagai Fungsi Waktu pada Fermentasi tiap Jenis Mikroorganisme dengan Konsentrasi Gula Awal 150 g/L

Gambar IV.15 menunjukkan perubahan konsentrasi gula pada proses fermentasi tiap jenis mikroorganisme dengan konsentrasi gula awal 150 g/L. Pada *Saccharomyces cerevisiae* konsentrasi gula tersisa sebesar 55,182 g/L ; campuran *Saccharomyces cerevisiae*+*Pichia Stipitis* konsentrasi gula tersisa 17,853 g/L ; *Zymomonas mobilis* A3 konsentrasi gula tersisa 5,681 g/L ; campuran *Zymomonas mobilis* A3+*Pichia Stipitis* konsentrasi gula tersisa 17,042 g/L. Penurunan konsentrasi gula

tertinggi terdapat pada campuran *Zymomonas mobilis* A3 sebesar 145,26 g/L. *Zymomonas mobilis* A3, yaitu bakteri *Zymomonas mobilis* yang dimutasi menggunakan mutagen hydroxylamine yang diseleksi pada media asam sehingga membentuk karakteristik tahan terhadap asam. Kelebihan *Zymomonas mobilis* A3 yaitu, memiliki toleransi suhu yang tinggi, kemampuan untuk mencapai konversi yang lebih cepat, lebih tahan terhadap kadar ethanol yang tinggi yang dihasilkan pada proses fermentasi apabila dibandingkan *Zymomonas mobilis* yang tak termutasi (Widjaja et al., 2010). Pada konsentrasi gula awal tinggi masih dapat dicapai kadar etanol tertinggi dikarenakan bakteri *Zymomonas mobilis* termutasi memiliki struktur hopanoid atau lipida membran yang kompleks sehingga menyebabkan membran menjadi lebih stabil dan memiliki kerapatan yang baik, sehingga molekul lain sulit untuk menembus sel tersebut, termasuk etanol (Widjaja et al., 2010).

IV.3 Pengaruh Jenis Mikroorganisme terhadap Konsentrasi dan Yield Etanol

Pada penelitian ini dilakukan proses fermentasi dimana untuk proses fermentasi dilakukan selama 90 jam agar gula reduksi dapat turun secara stabil. Berikut merupakan kadar etanol (%) yang dihasilkan pada saat proses fermentasi untuk masing-masing jenis mikroorganisme

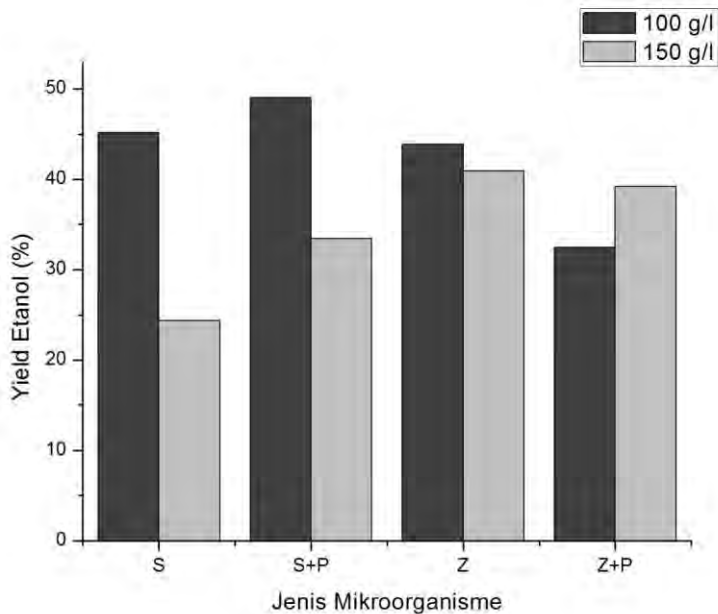


Gambar IV.16 Perbandingan Kadar Etanol *Broth* Pada Proses Fermentasi *Batch* Untuk Masing-Masing Mikroorganisme.

Gambar IV.16 menunjukkan hasil analisa *gas chromatography* untuk masing-masing proses fermentasi *batch*. Pada kadar gula awal 100 g/L campuran *Saccharomyces cerevisiae* dan *Pichia stipitis* menghasilkan etanol sebesar 6,21% ; *Saccharomyces cerevisiae* sebesar 5,72% ; *Zymomonas mobilis* termutasi sebesar 5,56% ; campuran *Zymomonas mobilis* termutasi dan *Pichia stipitis* sebesar 4,11%. Dari data tersebut menunjukkan campuran mikroorganisme *Saccharomyces cerevisiae* dan *Pichia stipitis* menghasilkan etanol dengan kadar tertinggi dibandingkan mikroorganisme lainnya. Proses fermentasi menggunakan campuran *Saccharomyces cerevisiae* dan *Pichia stipitis* dapat mengoptimalkan proses penguraian glukosa dan xilosa sehingga menghasilkan etanol yang lebih banyak. Adanya campuran strain ini selain mampu menghasilkan

lebih banyak etanol karena adanya dua sumber gula yaitu glukosa dan xilosa, kedua strain ini juga bekerja secara sinergi. Terbentuknya xylitol yang merupakan inhibitor bagi kinerja *Pichia stipitis* akan dapat teratasi dengan penambahan strain *Saccharomyces cerevisiae* untuk membantu proses fermentasi asam piruvat menjadi etanol (Widjaja et al., 2012).

Pada kadar gula awal 150 g/L campuran *Saccharomyces cerevisiae* dan *Pichia stipitis* menghasilkan etanol sebesar 6,36% ; *Saccharomyces cerevisiae* sebesar 4,72% ; *Zymomonas mobilis* termutasi sebesar 7,78% ; campuran *Zymomonas mobilis* termutasi dan *Pichia stipitis* sebesar 7,45%. Dari data tersebut menunjukkan campuran mikroorganisme *Zymomonas mobilis* termutasi menghasilkan etanol dengan kadar tertinggi dibandingkan mikroorganisme lainnya. *Zymomonas mobilis* A3, yaitu bakteri *Zymomonas mobilis* yang dimutasi menggunakan mutagen hydroxylamine yang diseleksi pada media asam sehingga membentuk karakteristik tahan terhadap asam. Kelebihan *Zymomonas mobilis* A3 yaitu, memiliki toleransi suhu yang tinggi, kemampuan untuk mencapai konversi yang lebih cepat, lebih tahan terhadap kadar etanol yang tinggi yang dihasilkan pada proses fermentasi (Widjaja et al., 2010).



Gambar IV.17 Perbandingan *Yield Etanol* pada Proses Fermentasi *Batch* untuk Masing-Masing Mikroorganisme

Gambar IV.17 menunjukkan hasil perhitungan *yield etanol* untuk masing-masing proses fermentasi *batch*. Pada kadar gula awal 100 g/L *Zymomonas mobilis* termutasi memiliki *yield etanol* sebesar 43,87% ; campuran *Zymomonas mobilis* termutasi dan *Pichia stipitis* sebesar 32,43% ; campuran *Sacharomyces cerevisiae* dan *Pichia stipitis* sebesar 49,00% ; *Sacharomyces cerevisiae* sebesar 45,13%. Pada kadar gula awal 100 g/L campuran *Saccharomyces cerevisiae* dan *Pichia stipitis* memiliki *yield etanol* tertinggi. Proses fermentasi menggunakan campuran *Saccharomyces cerevisiae* dan *Pichia stipitis* dapat mengoptimalkan proses penguraian glukosa dan xilosa sehingga menghasilkan etanol yang lebih banyak. Adanya campuran strain

ini selain mampu menghasilkan lebih banyak etanol karena adanya dua sumber gula yaitu glukosa dan xilosa, kedua strain ini juga bekerja secara sinergi. Terbentuknya xylitol yang merupakan inhibitor bagi kinerja *Pichia stipitis* akan dapat teratasi dengan penambahan strain *Saccharomyces cerevisiae* untuk membantu proses fermentasi asam piruvat menjadi etanol (Widjaja et al., 2012).

Pada kadar gula awal 150 g/L *Zymomonas Mobilis* termutasi memiliki yield etanol sebesar 40,92% ; campuran *Zymomonas mobilis* termutasi dan *Pichia Stipitis* sebesar 39,19% ; campuran *Sacharomyces cereviseae* dan *Pichia stipitis* sebesar 33,45% ; *Sacharomyces cereviseae* sebesar 24,83%. Mikroorganisme *Zymomonas mobilis* termutasi memiliki yield etanol tertinggi pada kadar gula awal 150 g/L. Pada konsentrasi gula awal yang tinggi, masih dapat dicapai kadar etanol tertinggi dikarenakan bakteri *Zymomonas mobilis* termutasi memiliki struktur hopanoid atau lipida membran yang kompleks sehingga menyebabkan membran menjadi lebih stabil dan memiliki kerapatan yang baik, sehingga molekul lain sulit untuk menembus sel tersebut, termasuk etanol (Widjaja et al.,2010).

Secara keseluruhan yield etanol yang didapat pada kadar gula awal 100 g/L lebih tinggi dari kadar gula awal 150 g/L. Kadar gula 100 g/L merupakan kadar optimum karena kadar gula yang terlalu tinggi dapat menghambat proses produksi etanol (Sadik dan Halema,2014).

Halaman ini sengaja dikosongkan

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian dan analisa yang telah dilakukan, dapat diambil kesimpulan bahwa :

1. Kadar etanol terbaik dihasilkan oleh fermentasi *batch* menggunakan mikroorganisme *Zymomonas mobilis* termutasi A3 dengan kadar gula awal nira sorghum 150 g/L, yaitu sebesar 7,78%.
2. Hasil % *yield* etanol tertinggi dihasilkan pada fermentasi *batch* menggunakan campuran *Saccharomyces Cerevisiae* dan *Pichia Stipitis* dengan kadar gula awal nira sorghum 100 g/L yaitu sebesar 49,00 %.
3. Kadar gula awal nira sorghum 100 g/L merupakan kadar gula terbaik untuk fermentasi *batch* dilihat dari keseluruhan *yield* etanol yang dihasilkan.

V.2 Saran

1. Nira sorgum harus segera di *treatment*, karena dapat terfermentasi dengan sendirinya.
2. Perlu dilakukan penelitian pada nira sorgum pada kondisi apa nira tersebut tidak dapat terfermentasi dengan sendirinya.
3. Analisa terhadap sampel yang diambil harus segera dilakukan supaya tidak terjadi fermentasi lebih lanjut.

DAFTAR PUSTAKA

- Alfena, Chrisnawati, Rosa. S., 2009, Produksi Etanol Menggunakan Mutan *Zymomonas mobilis* Yang Dimutasi Dengan *Hydroxylamine*. *Undergraduate Theses of Chemistry Department, Sepuluh Nopember Institute of Technology*, RSKi 661.82.
- Bai, J.W., Anderson, W.A., and Moo-Young, M., 2008, *Research review paper: Ethanol fermentation technologies from sugar and starch feedstocks*, *Biotechnology Advances* 26, 89–105.
- Bailey, J. E., dan Ollis, D. F., 1986, *Biochemical Engineering Fundamentals*, Mc Graw-Hill Inc, New York.
- Cazetta, M.L., Celligoi, M.A.P.C., Buzato, J.B., dan Scarmino, I.S. 2007. *Fermentation of Molasses by Zymomonas mobilis : Effects of Temperature and Sugar Concentration on Ethanol Production*, *Science Direct Elsevier, Bioresource Technology* 98, 2824-2828.
- Chandel AK., Felipe A.F., Milessi S. 2012. *Dilute Acid Hydrolysis of Agro-Residues for the Depolymerization of Hemicellulose: State-of-the-Art*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg DOI: 10.1007/978-3-642-31887-0_2.
- Ardian, N.D., Endah, R.D., dan Sperisa, D., 2007, Pengaruh Kondisi Fermentasi terhadap Yield Etanol pada Pembuatan Bioetanol dari Pati Garut, *J. Gema Teknik*, 2, pp.1
- Ernes, Atmiral., Ratnawati, Lia., Wardani, Agustin K., Kusnadi, Joni. 2014. Optimasi Fermentasi Bagas Tebu Oleh *Zymomonas mobilis* CP4 (NRRL B-14023) Untuk Produksi Bioetanol. *AGRITECH*, Vol. 34, No.3, Agustus 2014.
- Gunasekaran, P. dan Raj, K.C. 1999. *Fermentation Technology- Zymomonas mobilis*, Departement of Microbial Technology, School of Biological Sciences, Mandurai Kamaraj University: India.
- Kollerup, F., Daugulis, A., *The Canadian Journal of Chemical Engineering Volume 64, Issue 4*, pages 598–606, August 1986

- Miller, Gail L. 1959. *Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar*. ANALYTICAL CHEMISTRY, VOL. 31, NO. 3, p.426-428
- Mutepe RD., Marx S., Gryp VP. 1995. *Ethanol Production from Sweet Sorghum*. School of Chemical and Mineral Engineering, North-West University.
- Putra, Surya Rosa .2008. *Produksi Etanol menggunakan Mutan Zymomonas mobilis yang Dimutasi dengan Hydroxylamine*. Surabaya: Kimia FMIPA, Institut Teknologi Sepuluh Nopember
- Putri, Lily Surayya Eka., Sukandar, Dede. 2008. Konversi Pati Ganyong (*Canna edulis* Ker.) Menjadi Bioetanol melalui Hidrolisis Asam dan Fermentasi. BIODIVERSITAS Volume 9, Nomor 2. Halaman: 112-116.
- Sadik, Mahmoud Wafik., Halema, Asmaa A. 2014. *Production of Ethanol from Molasses and Whey Permeate Using Yeasts and Bacterial Strains. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences Volume 3 Number 3 (2014) pp.804-818*.
- Silviana H., Puspita E., Ismail T. 2010. Fermentasi Etanol dari Molasses dengan *Zymomonas mobilis* A3 yang Diamobilisasi pada κ -Karaginan. Surabaya: Teknik Kimia FTI, Institut Teknologi Sepuluh Nopember
- Tano, M. S., and Buzato, J. B. 2003. *Effect of The Presence of Initial Ethanol on Ethanol Production in Sugar Cane Juice Fermented by Zymomonas mobilis*, Brazilian Journal of Microbiology 34, 242-244
- Tortora, Gerard J., Funke, Berdell R., Case, Christine L. 2010. *Microbiology an introduction, 10thed*. Pearson.
- Tripetchkul, S., Tonokawa, M., Ishizaki, A. 1992. *Ethanol Production by Zymomonas mobilis using Natural Rubber Waste as a Nutritional Source*, Science Direct Elsevier, Journal of Fermentation and Bioengineering 74, 384-388.
- Ullmann's. 2003, Encyclopedia of Industrial Chemistry. Vol. 12. Ed. 6. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co FgaA.

- Wardani, Agustin Krisna., Pertiwi, Fenty Nurtyastuti Eka. 2013. Produksi Etanol Dari Tetes Tebu Oleh *Saccharomyces cerevisiae* Pembentuk Flok (NRRL – Y 265). AGRITECH, Vol. 33, No. 2, Mei 2013.
- Widjaja, Arief., Gunawan, Setyo. 2012. Pengembangan Teknologi Produksi Bioetanol Generasi 2 Melalui Pemanfaatan Selulosa Dan Hemiselulosa Dalam Jerami Padi. Surabaya: Teknik Kimia, Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
- Widjaja, Tri., Hariani, Natalia., Darmawan, R., Gunawan, Setiyo. 2010. Teknologi Immobilisasi Sel Ca-Alginat Untuk Memproduksi Etanol Secara Fermentasi Kontinyu Dengan *Zymomonas mobilis* Termutasi. Seminar Rekayasa Kimia dan Proses 2010.
- Zhang et al. 2010. *Fermentation potentials of Zymomonas mobilis and its application in ethanol production from low-cost raw sweet potato*. African Journal of Biotechnology. 9. 37. 6122-6128.

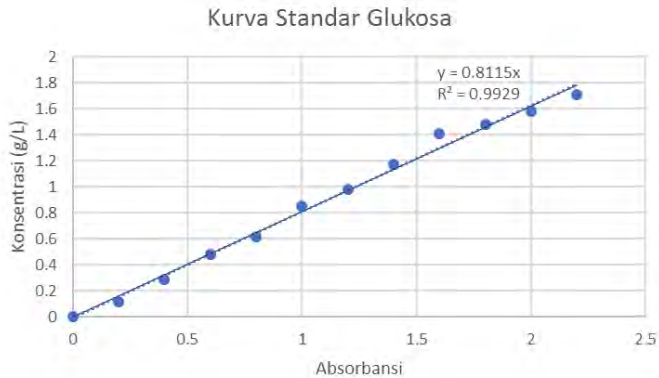
APPENDIKS

A. Membuat Kurva Standar Glukosa

Membuat kurva standar glukosa dengan memplot konsentrasi glukosa dari larutan standar dengan absorbansi 540nm.

Tabel A.1 Data Pembuatan Kurva Kalibrasi Glukosa

Absorbansi	Konsentrasi (g/L)
0	0
0,1	0,118
0,2	0,288
0,4	0,484
0,6	0,614
0,8	0,85
1	0,98
1,2	1,172
1,4	1,406
1,6	1,482
1,8	1,584
2	1,706



Gambar A.1 Kurva Standar Glukosa

B. Pengenceran Nira Sorgum

Dari hasil analisa konsentrasi glukosa menggunakan metode DNS dengan pengenceran 100 kali untuk konsentrasi glukosa dalam nira sorgum, hasil pengamatan dari spectrophotometer diperoleh :

$$A = 2.1$$

Lalu A dimasukkan ke persamaan berikut :

$$y = 0.8115 \times X$$

$$= 0.8115 \times 2.1$$

$$= 1.70415$$

Kemudian dikalikan faktor pengenceran 100 kali, sehingga didapatkan konsentrasi glukosa = 170.415 g/L.

Tabel A.2 Data Analisa DNS Nira Sorgum

Absorbansi	Pengenceran	Konsentrasi Glukosa	Konsentrasi (g/L)
2.1	100	1.70	170.415

Diinginkan konsentrasi glukosa dalam nira sorgum adalah 15% (150 g/L). Berikut perhitungan pengenceran nira sorgum:

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 170.415 = 1000 \text{ ml} \times 15$$

$$V1 = 88.02 \text{ ml}$$

Pengenceran dilakukan dengan mengambil 88.02 ml nira sorgum dan ditambahkan aquades sampai volume 1000 ml.

C. Perhitungan Gula Reduksi

Perhitungan gula reduksi dilakukan dengan mengukur absorbansi sampel yang telah ditambahkan larutan DNS menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 540nm.

C.1 Perhitungan Gula Reduksi Proses Fermentasi Batch

Dari hasil analisa konsentrasi glukosa menggunakan metode DNS dengan pengenceran 100 kali untuk konsentrasi glukosa dalam sampel fermentasi, hasil pengamatan dari spectrophotometer diperoleh :

$$A = 1.87$$

Lalu A dimasukkan ke persamaan berikut :

$$y = 1.87 \times X$$

$$= 1.87 \times 0.8115$$

$$= 1.5175$$

Kemudian dikalikan faktor pengenceran 100 kali, sehingga didapatkan konsentrasi glukosa = 151.75 g/L.

Tabel A.3 Data perhitungan gula reduksi menggunakan mikroorganisme *Saccharomyces cerevisiae* dengan kadar gula awal 150 g/L

Jam	Absorbansi	Pengenceran	Konsentrasi Gula	Konsentrasi Gula (g/L)
0	1.87	100	1.51	151.75

6	1.73	100	1.40	140.38
12	1.48	100	1.20	120.10
18	1.32	100	1.07	107.11
24	1.29	100	1.04	104.68
30	1.12	100	0.90	90.88
36	1.08	100	0.87	87.64
42	0.91	100	0.73	73.84
48	0.86	100	0.69	69.78
54	0.83	100	0.67	67.35
60	0.78	100	0.63	63.29
66	0.76	100	0.61	61.67
72	0.73	100	0.59	59.23
78	0.72	100	0.58	58.42
84	0.69	100	0.55	55.99
90	0.68	100	0.55	55.18

Tabel A.4 Data perhitungan gula reduksi menggunakan campuran mikroorganisme *Saccharomyces cerevisiae* dan *Pichia stipitis* dengan kadar gula awal 150 g/L

Jam	Absorbansi	Pengenceran	Konsentrasi Gula	Konsentrasi Gula (g/L)
0	1.88	100	1.52	152.56
6	1.28	100	1.03	103.87
12	1.1	100	0.89	89.26
18	0.94	100	0.76	76.28
24	0.99	100	0.803	80.33
30	0.94	100	0.76	76.28
36	0.86	100	0.69	69.78

42	0.77	100	0.62	62.48
48	0.69	100	0.55	55.99
54	0.61	100	0.49	49.50
60	0.57	100	0.46	46.25
66	0.42	100	0.34	34.08
72	0.35	100	0.28	28.40
78	0.3	100	0.24	24.34
84	0.24	100	0.19	19.47
90	0.22	100	0.17	17.85

Tabel A.5 Data perhitungan gula reduksi menggunakan mikroorganisme *Zymomonas mobilis* A3 dengan kadar gula awal 150 g/L

Jam	Absorbansi	Pengenceran	Konsentrasi Gula	Konsentrasi Gula (g/L)
0	1.86	100	1.50	150.93
6	1.02	100	0.82	82.77
12	0.94	100	0.76	76.28
18	0.83	100	0.67	67.35
24	0.692	100	0.56	56.15
30	0.68	100	0.55	55.18
36	0.63	100	0.51	51.12
42	0.56	100	0.45	45.44
48	0.42	100	0.34	34.08
54	0.4	100	0.32	32.46
60	0.37	100	0.30	30.02
66	0.29	100	0.23	23.53
72	0.21	100	0.17	17.04

78	0.06	100	0.04	4.86
84	0.08	100	0.06	6.49
90	0.07	100	0.056	5.68

Tabel A.6 Data perhitungan gula reduksi menggunakan mikroorganisme *Zymomonas mobilis* A3 dan *Pichia stipitis* dengan kadar gula awal 150 g/L

Jam	A	Pengenceran	Konsentrasi Gula	Konsentrasi Gula (g/L)
0	1.88	100	1.52	152.56
6	1.26	100	1.02	102.24
12	0.94	100	0.76	76.28
18	0.83	100	0.67	67.35
24	0.692	100	0.56	56.15
30	0.68	100	0.55	55.18
36	0.63	100	0.51	51.12
42	0.56	100	0.45	45.44
48	0.42	100	0.34	34.08
54	0.4	100	0.32	32.46
60	0.37	100	0.30	30.02
66	0.29	100	0.23	23.53
72	0.21	100	0.17	17.04
78	0.22	100	0.17	17.85
84	0.21	100	0.17	17.04
90	0.21	100	0.17	17.04

Tabel A.7 Data perhitungan gula reduksi menggunakan mikroorganisme *Saccharomyces cerevisiae* dengan kadar gula awal 100 g/L

jam ke-	Absorbansi	FP	Konsentrasi Gula	Konsentrasi Gula (g/L)
0	1.28	100	1.03	103.87
6	1.16	100	0.94	94.13
12	1.08	100	0.87	87.64
18	1.03	100	0.83	83.58
24	0.95	100	0.77	77.09
30	0.78	100	0.63	63.29
36	0.86	100	0.69	69.78
42	0.71	100	0.57	57.61
48	0.52	100	0.42	42.19
54	0.43	100	0.34	34.89
60	0.35	100	0.28	28.40
66	0.29	100	0.23	23.53
72	0.16	100	0.13	12.98
78	0.09	100	0.07	7.30
84	0.1	100	0.08	8.11
90	0.09	100	0.07	7.30

Tabel A.8 Data perhitungan gula reduksi menggunakan mikroorganisme *Saccharomyces cerevisiae* dan *Pichia stipitis* dengan kadar gula awal 100 g/L

jam ke-	Absorbansi	FP	Konsentrasi Gula	Konsentrasi Gula (g/L)
0	1.28	100	1.03	103.87
6	1.03	100	0.83	83.58

12	0.84	100	0.68	68.16
18	0.78	100	0.63	63.29
24	0.65	100	0.52	52.74
30	0.81	100	0.65	65.73
36	0.69	100	0.56	55.99
42	0.52	100	0.42	42.19
48	0.45	100	0.36	36.51
54	0.38	100	0.30	30.83
60	0.25	100	0.20	20.28
66	0.17	100	0.13	13.79
72	0.11	100	0.08	8.92
78	0.06	100	0.04	4.86
84	0.05	100	0.04	4.05
90	0.05	100	0.04	4.05

Tabel A.9 Data perhitungan gula reduksi menggunakan mikroorganisme *Zymomonas mobilis* A3 dengan kadar gula awal 100 g/L

jam ke-	Absorbansi	FP	Konsentrasi Gula	Konsentrasi Gula (g/L)
0	1.28	100	1.03	103.87
6	1.11	100	0.90	90.07
12	1.09	100	0.88	88.45
18	1.06	100	0.86	86.01
24	1.04	100	0.84	84.39
30	0.98	100	0.79	79.52
36	0.98	100	0.79	79.52
42	0.87	100	0.70	70.60
48	0.78	100	0.63	63.29

54	0.56	100	0.45	45.44
60	0.45	100	0.36	36.51
66	0.36	100	0.29	29.21
72	0.21	100	0.17	17.04
78	0.12	100	0.09	9.73
84	0.12	100	0.097	9.73
90	0.11	100	0.08	8.92

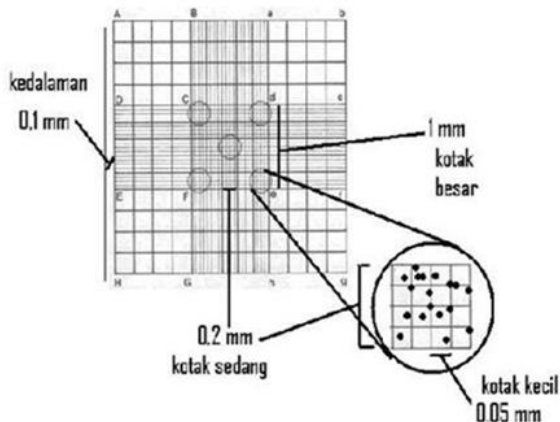
Tabel A.10 Data perhitungan gula reduksi menggunakan mikroorganisme *Zymomonas mobilis* A3 dan *Pichia stipitis* dengan kadar gula awal 100 g/L

jam ke-	Absorbansi	FP	Konsentrasi Gula	Konsentrasi Gula (g/L)
0	1.26	100	1.02	102.24
6	1.19	100	0.96	96.56
12	1.13	100	0.91	91.70
18	1.11	100	0.90	90.07
24	1.08	100	0.87	87.64
30	0.93	100	0.75	75.47
36	1.12	100	0.90	90.88
42	1.03	100	0.83	83.58
48	0.96	100	0.77	77.90
54	0.86	100	0.69	69.78
60	0.74	100	0.60	60.05
66	0.68	100	0.55	55.18
72	0.42	100	0.34	34.08
78	0.28	100	0.22	22.72
84	0.28	100	0.22	22.72

90	0.28	100	0.22	22.72
----	------	-----	------	-------

D. Perhitungan Jumlah Sel

Menghitung jumlah sel dengan menggunakan *Haemocytometer* pada saat pembuatan starter untuk mengetahui fase log mikroorganisme sehingga proses fermentasi berjalan maksimal karena mikroorganisme tumbuh dengan baik.



Gambar A.2 *Haemocytometer*

Dalam analisa Counting chamber, dipergunakan 16 kotak paling kecil yang memiliki luas $0,0025 \text{ mm}^2$. Lalu ditentukan 5 kotak yang akan dihitung jumlah sel yang terkandung dalam 5 kotak tersebut.

A			B
	E		
C			D

Data :

Faktor pengenceran = 100 kali

Sisi kotak kecil = 0,05 mm

Tebal hemasitometer = 0,1 mm

Contoh perhitungan :

$$\text{Jumlah sel/ml} = 0,8 \frac{\text{sel}}{\text{kotak}} \times \frac{1 \text{ kotak}}{0,0025 \text{ mm}^2} \times \frac{1}{0,1 \text{ mm}} \times 100 \times \frac{1000 \text{ mm}^3}{1 \text{ ml}} = 320000000 \text{ sel/ml}$$

Tabel A.11 Perhitungan Jumlah Sel pada Starter Mikroorganisme *Zymomonas mobilis* A3

Jam	Jumlah Sel	
	150 g/L	100 g/L
0	133333333,3	106666666,7
1	133333333,3	106666666,7
2	133333333,3	106666666,7
3	106666666,7	106666666,7
4	106666666,7	80000000,0
5	133333333,3	80000000,0
6	160000000,0	160000000,0
7	213333333,3	213333333,3
8	240000000,0	213333333,3
9	240000000,0	240000000,0
10	266666666,7	240000000,0
11	346666666,7	293333333,3
12	373333333,3	320000000,0
13	400000000,0	346666666,7
14	400000000,0	320000000,0
15	400000000,0	320000000,0

Tabel A.12 Perhitungan Jumlah Sel pada Starter Mikroorganisme *Saccaromyces cerevisiae*

Jam	Jumlah Sel	
	150 g/L	100 g/L
0	133333333,3	133333333,0
1	133333333,3	106666667,0
2	133333333,3	106666667,0
3	106666666,7	106666667,0
4	106666666,7	106666667,0
5	186666666,7	160000000,0
6	240000000,0	213333333,0
7	293333333,3	293333333,0
8	400000000,0	320000000,0
9	400000000,0	320000000,0
10	453333333,3	373333333,0
11	426666666,7	400000000,0
12	426666666,7	400000000,0
13	453333333,3	426666667,0
14	453333333,3	426666667,0
15	453333333,3	426666667,0

Tabel A.13 Perhitungan Jumlah Sel pada Starter Mikroorganisme *Pichia stipitis*

Jam	Jumlah Sel	
	150 g/L	100 g/L
0	160000000	133333333
1	160000000	133333333
2	133333333	133333333
3	133333333	106666667
4	133333333	106666667
5	186666667	160000000
6	186666667	186666667
7	213333333	213333333

8	240000000	213333333
9	293333333	240000000
10	320000000	266666667
11	346666667	266666667
12	320000000	293333333
13	320000000	320000000
14	320000000	293333333
15	320000000	293333333

E. Menghitung Yield

Untuk analisa etanol , amyl alcohol, isopropyl alcohol, asam asetat dan air digunakan Gas Chromatography. Untuk variable penelitian *Zymomonas mobilis A3*, *Saccharomyces Cerevisiae*, *Saccharomyces Cerevisiae* dan *Pichia Stipitis* serta *Zymomonas mobilis A3* dan *Pichia Stipitis* ,kondisi GC yang digunakan :

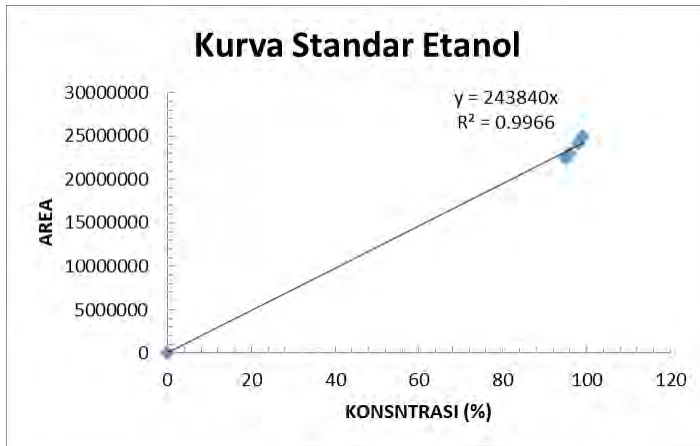
Model : GC7900
 Detector : TCD, Temp=200C
 Inlet : PIP, Temp=250
 Coloumn : TM-5

E.1 Kurva Kalibrasi Etanol

Kurva standar dibuat dengan memplot konsentrasi dan area

Tabel A.15 Kurva Standar Etanol

Konsentrasi Etanol (%)	Area
0	0
95	22425592
96	22995649
98	24155394
99	24993639



Gambar A.4 Kurva Standar Etanol

Contoh perhitungan GC :

Data dari analisa GC pada sampel *Zymomonas mobilis* A3 diperoleh luas area untuk etanol dengan luas area komponen etanol (Y) = 1896092 dimasukkan ke persamaan berikut :

$$Y = 243840 \cdot X$$

$$1896092 = 243840 \cdot X$$

$$X = 7,78\%$$

$$\% \text{ Konsentrasi etanol} = 7.78\%$$

E.2 Menghitung Yield Teoritis

Berdasarkan reaksi berikut :

Basis 100 gram glukosa



$$\text{Yield} = \frac{\text{Massa produk}}{\text{Reaktan masuk reaktor}} \times 100 \%$$

$$\begin{aligned}
 & \frac{51,11 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100\% \\
 & = 0,51 \times 100\% = 51,1 \%
 \end{aligned}$$

E.3 Menghitung Yield Hasil Fermentasi

Data penelitian :

Volum Reaktor = 1,8 L

Kadar Gula awal = 100 g/L

Massa gula awal = 100 g/L x 1,8 L = 180 g

Hasil fermentasi, kadar etanol = 6,21 %

Perhitungan :

Kadar etanol (g/L) = Kadar Etanol (%) x ρ etanol

$$= 6,21/100 \times 789 \text{ g/L}$$

$$= 49,00 \text{ g/L}$$

Massa Etanol dalam fermentor = Kadar Etanol (g/L) x

Volume Reaktor

$$= 49,00 \text{ g/L} \times 1,8 \text{ L}$$

$$= 88,19 \text{ g}$$

$$\text{Yield Fermentasi} = \frac{\text{Massa Etanol dalam fermentor}}{\text{Massa gula awal}} \times$$

100 %

$$= 88,19 \text{ g}/180 \text{ g} \times 100\%$$

$$= 48,99 \%$$

Tabel A.19 Hasil Perhitungan Kadar Etanol dan Yield

PARA METER	<i>S. cerevisiae</i>		<i>S. cerevisiae</i> dan <i>Pichia</i> <i>stipitis</i>		<i>Zymomonas</i> <i>mobilis</i> A3		<i>Zymomonas</i> <i>mobilis</i> A3 dan <i>Pichia</i> <i>stipitis</i>	
	100 gr/L	150 gr/L	100 gr/L	150 gr/L	100 gr/L	150 gr/L	100 gr/L	150 gr/L
Kadar Etanol (%)	5,72	4,72	6,21	6,36	5,56	7,78	4,11	7,45
Yield (%)	45,1	24,8	50,5	48,9	43,8	40,9	32,4	39,1

RIWAYAT PENULIS



Arfian Hafidz Adinagara, penulis dilahirkan di Surabaya pada tanggal 13 Agustus 1992 yang merupakan anak kedua dari tiga bersaudara. Penulis telah menempuh pendidikan formal yaitu lulus dari TK Al-Manar Surabaya pada tahun 1998, lulus dari SDN Tunas Harapan II Bandung pada tahun 2004, lulus dari SMP Negeri 1 Bandung pada tahun 2007 dan lulus dari SMA Muhammadiyah 2 Surabaya pada tahun 2010. Setelah lulus SMA penulis diterima di Program Studi Diploma 3 Teknik Kimia FTI – ITS dengan Nomor Registrasi 2310 030 002. Selama kuliah penulis aktif di Himpunan Mahasiswa Diploma 3 Teknik Kimia FTI – ITS, sebagai Staff Bidang Pengembangan Sumber Daya Mahasiswa (2011 - 2013) dan beberapa pelatihan dan seminar yang diadakan di Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya (ITS). Penulis melanjutkan studinya melalui tahap Lintas Jalur S1 di Teknik Kimia ITS.

Email : arfianhafidz@gmail.com

RIWAYAT PENULIS



Tri Wijaya Purnama, penulis dilahirkan di Balikpapan pada tanggal 17 Mei 1992 yang merupakan anak ke-tiga dari empat bersaudara. Penulis telah menempuh pendidikan formal yaitu lulus dari TK Putra Balikpapan pada tahun 1998, lulus dari SDN 029 Balikpapan pada tahun 2004, lulus dari SMP Negeri 3 Balikpapan pada tahun 2007 dan lulus dari SMA Negeri 2 Balikpapan pada tahun 2010. Setelah lulus SMA penulis diterima di Program Studi Diploma 3

Teknik Kimia FTI – ITS dengan Nomor Registrasi 2310 030 021. Selama kuliah penulis aktif di Himpunan Mahasiswa Diploma 3 Teknik Kimia FTI – ITS, sebagai Staff Bidang Pengembangan Sumber Daya Mahasiswa (2011 - 2013) dan beberapa pelatihan dan seminar yang diadakan di Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya (ITS). Penulis melanjutkan studinya melalui tahap Lintas Jalur S1 di Teknik Kimia ITS.

Email : triwijayapurnama@gmail.com